

Bioanálise aplicada à qualidade do solo de pastagens da Região Médio Paraíba do Sul ⁽¹⁾

Gabriela Martins Silva²; Daiane Rigoni³; Marcelo Antoniol Fontes⁴; Jorge Makhlouta Alonso⁵; Giselle Silva Dos Santos⁶; Rosângela Stralio⁷

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da FINEP/CT-AGRO/FNDCT Nº 01.22.0080.00/FINEP: 1219/21 e FAPERJ projeto 10.23.00.023.00.00. ⁽²⁾ Aluna de graduação, Engenharia Química, UFRJ. ⁽³⁾ Farmacêutica Bioquímica, Mestre, Analista, Embrapa Solos. ⁽⁴⁾ Engenheiro Agrônomo, Mestre, Analista, Embrapa Agrobiologia. ⁽⁵⁾ Engenheiro Florestal, PhD, Bolsista FINEP/Rede FERTBRASIL. ⁽⁶⁾ Aluna de graduação, Biologia, PUC/RJ. ⁽⁷⁾ Engenheira Agrônoma, PhD, Pesquisadora, Embrapa Solos.

Resumo – O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade enzimática do solo em pastagens do Médio Vale Paraíba, RJ. Amostras compostas da camada 0-10cm foram coletadas em Valença e Cachoeiras de Macacu, sob sistemas de integração pecuária-floresta (iPF) sob pastagem braquiária submetidas ao manejo convencional em diferentes níveis de degradação e sob mata secundária, processadas pelo protocolo FertBio. No sistema iPF o solo foi amostrado na linha do renque; projeção da copa e área central do pasto. Foram avaliadas atividades da arilsulfatase e β -glucosidase e a atividade da β -glucosidase foi consistentemente inferior à arilsulfatase. No iPF não foi observada diferença entre locais de amostragem. A β -glucosidase mostrou-se inferior na mata em relação ao local iPF B e a arilsulfatase foi similar nos locais de amostragem. Na Região de Valença, RJ, a atividade das enzimas decresceu nos pastos mais degradados em 2,4 vezes para β -glicosidase e 3,4 vezes para arilsulfatase, e em Cachoeiras de Macacu, a atividade da β -glicosidase decresceu cerca de 2 vezes nos pastos com maior nível de degradação. Foram gerados agrupamentos distintos em função da atividade enzimática e os níveis de degradação, indicando viabilidade do uso do indicador para avaliar o nível de degradação de pastagens.

Palavras-Chave: arilsulfatase, betaglucosidase, bioindicadores de qualidade do solo, IQS-Fertbio, bioanálise do solo.

Introdução

As pastagens ocupam a maior área agricultável do Brasil, aproximadamente 161 milhões de hectares sendo cerca de 60 milhões classificadas como pastagens nativas (Marin et al., 2016). Cerca de metade desta área é constituída por pastagens cultivadas, parcialmente degradadas e com baixa produtividade (Scolari, 2006). Existem iniciativas para estabelecer os níveis de degradação de pastagens com base em indicadores de qualidade de solo (Lisboa et al., 2016; Valle, 2018), taxa de cobertura (Lisboa et al., 2016; Valle, 2018), altura de pasto e produção de biomassa (Dias-Filho, 2014). No entanto, ainda não foram estabelecidos níveis de degradação com indicadores práticos de qualidade de solo e da pastagem de forma associada, que possam nortear os produtores na escolha de práticas de recuperação. Por captarem de forma antecipada as alterações decorrentes do manejo e serem mais sensíveis que atributos químicos e físicos do solo, incluindo o próprio teor de MOS os indicadores microbianos do solo ou bioindicadores do solo, como a biomassa microbiana e sua atividade ganharam destaque nos últimos anos na ciência do solo (Chaer, Tótola, 2007; Peixoto et al., 2010; Mendes et al., 2018). O país passou a protagonizar uma das maiores revoluções em termos analíticos, colocando à disposição do produtor tabelas de interpretação com níveis críticos para atributos biológicos-chaves do solo (Lopes et al., 2018), utilizando-se do mesmo princípio de calibração para recomendação de nutrientes (Cantarutti et al., 2007). Trabalhos pioneiros foram desenvolvidos pela equipe da Embrapa Cerrados envolvendo a variabilidade na atividade das principais enzimas relacionadas à atividade biológica dos solos, suas condições de preservação (Lopes et al., 2015) e resposta aos diferentes sistemas de manejo do solo (Lopes et al., 2018). Em 2019, foram publicados os limites para esses bioindicadores do solo relativos a amostras FERTBIO. Ou seja, amostras preparadas para análise química de rotina e coletadas após a colheita da cultura principal podem também ser utilizadas para análise da atividade das enzimas β -glucosidase, arilsulfatase,

fosfatase ácida e desidrogenase (Mendes et al., 2019), compondo o conceito de BioAS. Os autores pontuam que essa sequência de estudos demonstra que a implementação desse conceito de amostragem e análise é viável para solos argilosos do Cerrado, havendo necessidade de novos estudos na mesma direção em outros biomas e sistemas de produção, como os integrados em que a pecuária é o principal protagonista do sistema (Mendes et al., 2018, 2019).

A região fluminense do Médio Paraíba do Sul apresenta pastagens com níveis muito elevados de degradação, situação que ameaça a sustentabilidade agro econômica de uma importante atividade rural do Sul fluminense. O estabelecimento de critérios para avaliação do estágio de degradação através de indicadores práticos da qualidade do solo/pastagem, contribui para o estabelecimento de estratégias de manejo sustentável. O objetivo do trabalho foi avaliar as atividades enzimáticas da arilsulfatase e betaglicosidase em amostras de solo sob pastagens submetidas a sistemas de manejo distintos e diferentes níveis de degradação, e sob mata em áreas adjacentes, em Valença, RJ, região do Médio Vale Paraíba do Sul.

Material e Métodos

Foram analisadas amostras compostas (10 amostras simples) de solo da região de Valença e Cachoeiras de Macacu (RJ), em áreas de produtores rurais com diferentes estágios de degradação (N2, N3 e N4) das pastagens, bem como em áreas consideradas bem manejadas (N1) e áreas de mata em regiões próximas. Foram ainda coletadas e analisadas amostras de solo em áreas pastagens sob sistema de integração pecuária-floresta (iPF) na região de Valença, RJ, com pasto *Brachiaria* e *Eucaliptus*. Nas áreas de iPF o solo foi coletado na linha do renque (iPF R); próxima à borda das árvores, a cerca de 1m de distância do renque (iPF B) e na região central entre os renques (iPF P). O solo coletado nas diferentes regiões foi processado para terra fina seca ao ar (Teixeira et al, 2017) e de acordo com o protocolo FertBio (Mendes et al., 2019). As análises de BioAS foram conduzidas no laboratório de Leguminosas da Embrapa Agrobiologia, em Seropédica/RJ. Foram quantificadas as atividades das enzimas arilsulfatase, ligada ao ciclo do enxofre, e β - glicosidase, associada ao ciclo do carbono. A metodologia, descrita por Tabatabai (1994) e adaptada por Pazutti e Chaer (2012), consiste na extração e determinação colorimétrica do p-nitrofenol liberado quando a amostra de solo é incubada em uma solução tampão contendo o substrato sintético p-nitrofenil-sulfato, para a arilsulfatase, ou p-nitrofenil- β -D-glicosídeo, para a β -glicosidase.

Um total de 0,5 g de amostra de solo foi pesada, em duplicata, diretamente em tubos de ensaio de 10 ml. Em seguida, foram adicionadas as soluções tampão e a solução de substrato de acordo com a enzima a ser analisada. A mistura de solo e substrato foi incubada a 37 °C por 1 hora em banho-maria. Após esse período, o p-nitrofenol formado foi extraído pela adição de CaCl_2 juntamente com uma solução alcalina, cujo objetivo foi interromper a atividade enzimática e desenvolver a coloração amarelada para quantificação do p-nitrofenol. Os tubos contendo a reação foram centrifugados por 2 minutos a 3000 rpm e o sobrenadante foi utilizado para determinação colorimétrica em espectrofotômetro sob comprimento de onda de 410nm. Foram preparadas reações controle para cada uma das amostras contendo o solo sem o substrato, cujo objetivo foi quantificar a coloração não derivada da atividade da enzima. Um controle negativo também foi analisado, contendo todos os componentes utilizados na reação na ausência da amostra de solo. O teor de p-nitrofenol das amostras e controles foi calculado por referência a uma curva padrão de calibração traçada a partir das leituras de absorbância com padrões contendo 0, 10, 20, 30, 40 e 50 μg de p-nitrofenol, conforme o gráfico a seguir:

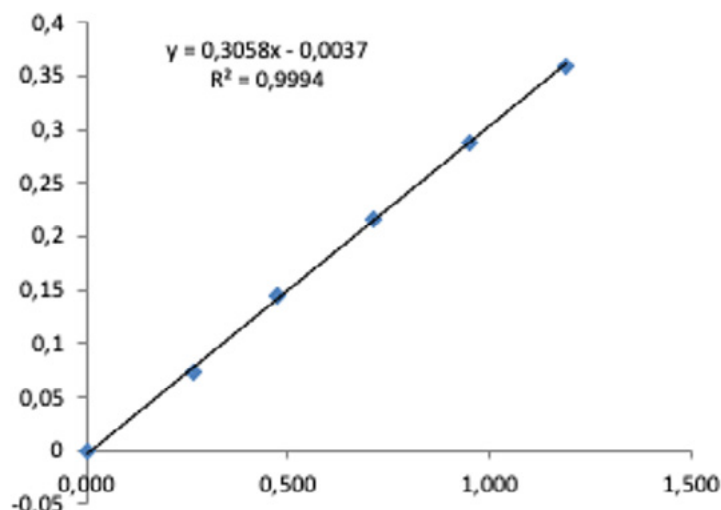


Figura 1. Gráfico demonstrativo da curva de calibração traçada a partir das leituras de absorbância (eixo x) com os padrões de concentração conhecida de substrato p-nitrofenol (eixo y) de uma análise de atividade enzimática da arilsulfatase de amostras procedentes de Valença/RJ.

Resultados e Discussão

Os resultados das análises enzimáticas realizadas nas amostras de solo coletadas nas duas regiões objeto do trabalho serão apresentados nas Figuras 2, 3 e 4. Os níveis detectados nas análises para as atividades enzimáticas foram compatíveis com os dados da literatura, sendo a da β - glicosidase consistentemente inferior à da arilsulfatase nas duas regiões amostradas. No iPF em Valença, RJ (Figura 2), não foi observada diferença significativa entre os locais de amostragem dentro do sistema integrado, renque, borda ou pasto (R, B ou P) para as atividades de ambas enzimas, indicando que a coleta na área de pasto pode ser usada para fins comparativos com solos coletados em áreas de pastagens sob manejo convencional. A atividade da β - glicosidase mostrou-se inferior nas regiões de mata em relação às áreas de iPF enquanto a da arilsulfatase foi similar. A atividade das enzimas decresceu nas pastagens com maior nível de degradação (N3) em relação aos pastos não degradados (N1) conforme apresentado na Figura 3. A redução foi de 2,4 vezes para as atividades da β - glicosidase e 3,4 vezes para a arilsulfatase em pastagens na região de Valença, RJ. Para os solos de Cachoeiras de Macacu apenas a atividade da β - glicosidase foi significativamente inferior no nível máximo de degradação da pastagem em relação ao pasto não degradado. Na região de Cachoeiras de Macacu, a atividade das enzimas na região da mata não diferiu das atividades nos solos de pastagem, independentemente do nível de degradação. A análise de agrupamento (Figura 4) apresentou três agrupamentos distintos: um formado por amostras de solos das áreas de pastagem com menor nível de degradação (N1) juntamente com 2 amostras provenientes de áreas de iPF coletadas nas áreas de renque e borda. O segundo agrupamento abrange as amostragens feitas nas áreas de iPF e de áreas de pastagem com nível intermediário de degradação. Por outro lado, no terceiro agrupamento, temos todas as amostras provenientes de pastagens degradadas (N3), com menores níveis de atividade enzimática, e apenas uma área proveniente de iPF coletado na área do renque de árvores.

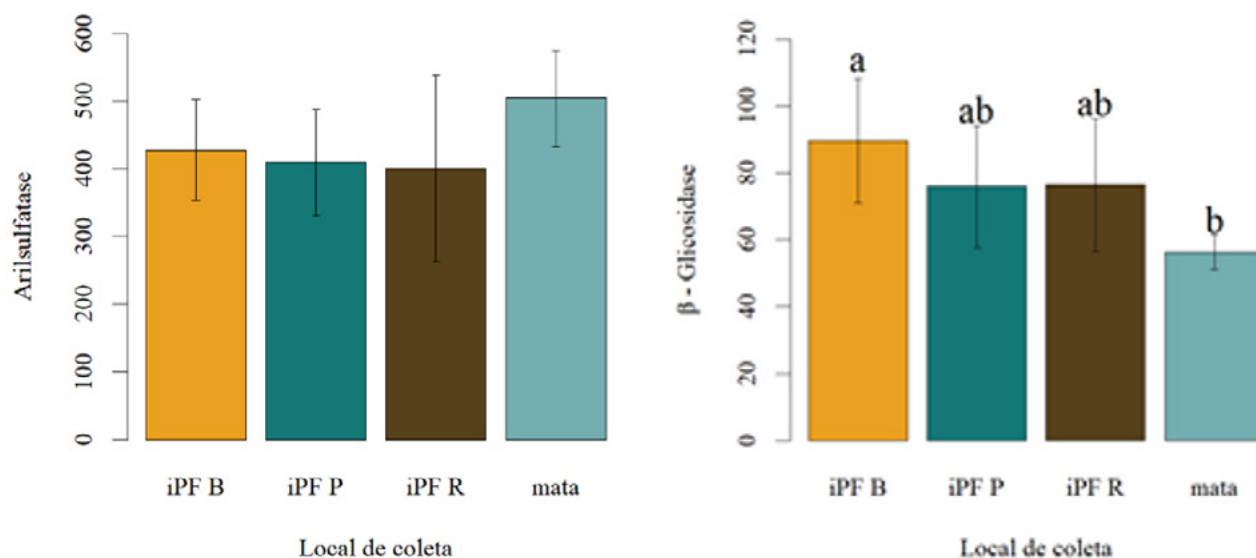


Figura 2. Atividade das enzimas arilsulfatase e β -glicosidase (em $\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$) no solo em pastagens sob sistema de integração pecuária-floresta (iPF) e em áreas de mata, em Valença, RJ. O solo do sistema integrado foi coletado em três locais distintos: na linha do renque (iPF R); próxima à borda das árvores, a 1m de distância do renque (iPF B) e na pastagem da região central entre os renques (iPF P).

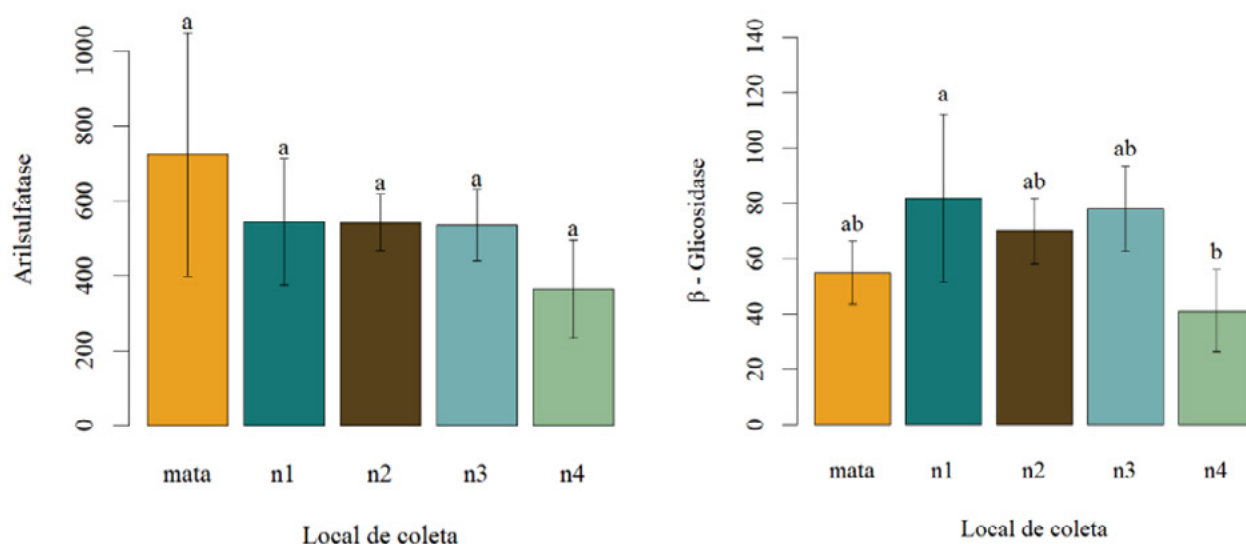


Figura 3. Atividade das enzimas arilsulfatase e β -glicosidase (em $\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$) no solo em pastagens em áreas de pastagens com manejo convencional, em diferentes níveis de degradação: N1 (pasto não degradado); N2 (nível intermediário de degradação) e N3 (nível intermediário – alto de degradação) e N4 (nível de degradação elevado) e em áreas de mata, em Cachoeiras de Macacu, RJ.

Na região de renque do iPF (iPF R) observou-se, uma menor densidade do pasto e maior ressecamento do solo. Como conclusão do trabalho observa-se que na Região de Valença, RJ, a atividade das enzimas decresceu nos solos com maior nível de degradação (N3) em relação aos pastos não degradados (N1), em 2,4 vezes para as atividades da β -glicosidase e 3,4 vezes para a arilsulfatase, e na região de Cachoeiras de Macacu, a atividade da β -glicosidase decresceu cerca de 2 vezes nas regiões com maior nível de degradação. Para as áreas de Valença foram gerados agrupamentos distintos em função da atividade enzimática e os níveis de degradação, indicando viabilidade do uso desse indicador para avaliar a sustentabilidade de práticas de manejo em pastagens.

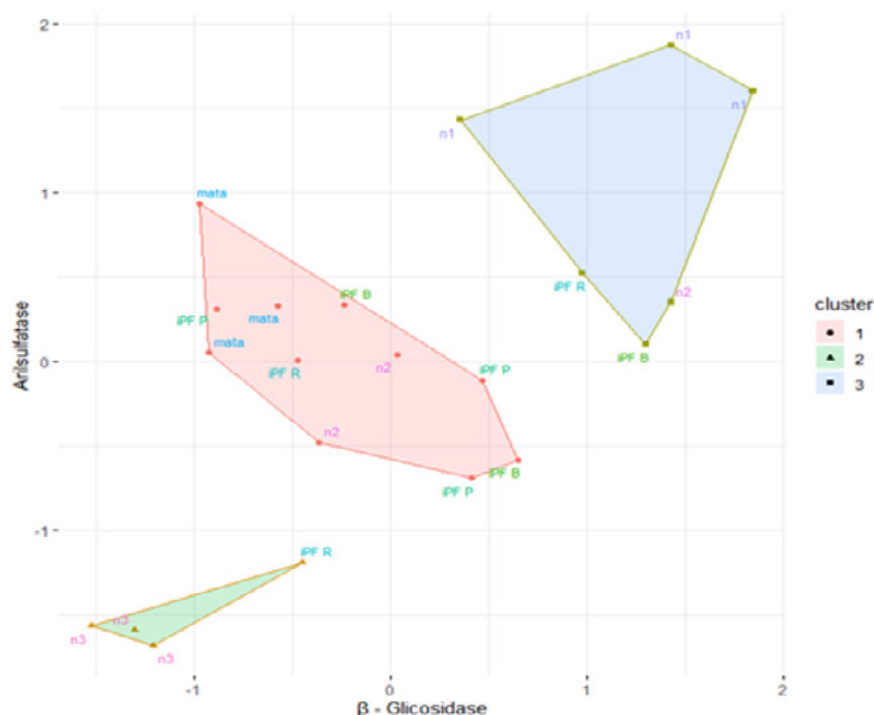


Figura 4. Análise de cluster mostrando o agrupamento da atividade da enzima arilsulfatase em amostras de solo sob sistema de integração pecuária-floresta, áreas de pastagem convencional com diferentes níveis de degradação e em áreas de mata, em Valença, RJ. A atividade enzimática foi avaliada no sistema integrado em amostras de solo coletadas na linha do renque (iPF R); próximo à borda das árvores, a 1m de distância do renque (iPF B); pastagem da região central entre os renques (iPF P); áreas com diferentes níveis de degradação: N1 (pasto não degradado); N2 (nível intermediário de degradação) e N3 (nível avançado de degradação).

Conclusões

A atividade das enzimas decresceu nos solos sob pastagens com maior nível de degradação (N3) em relação aos pastos não degradados (N1), em até 2,4 vezes para as atividades da β -glicosidase e 3,4 vezes para a arilsulfatase em solos de Valença, RJ e em cerca de 2 vezes para β -glicosidase nos solos de Cachoeiras de Macacu, gerando agrupamentos distintos de acordo com os níveis de degradação das pastagens e da atividade enzimática. Os resultados indicam a viabilidade do uso desse indicador para avaliar a sustentabilidade de práticas de manejo em pastagens.

Agradecimentos

Os autores agradecem às agências de fomento pelo apoio e ao Laboratório de Leguminosas da Embrapa Agrobiologia pelo treinamento nas análises enzimáticas.

Referências

CANTARUTTI, R. B.; BARROS, N. F. de; MARTINEZ, H. E. P.; NOVAIS, R. F. Avaliação da fertilidade do solo e recomendação de fertilizantes. In: NOVAIS, R. F. de; ALVAREZ V., V. H.; BARROS, N. F. de; FONTES, R. L.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (ed.). Fertilidade do solo. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 769-850.

CHAEER, G. M.; TÓTOLA, M. R. Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios eucalipto sobre indicadores qualidade solo. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 31, n. 6, p. 1381-1396, dez. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832007000600016>.

DIAS-FILHO, M. B. Diagnóstico das pastagens no Brasil. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2014. 36 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 402). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/102203/1/DOC-402.pdf>. Acesso em: 7 jul. 2022.

LISBOA, F. M.; DONAGEMMA, G. K.; BURAK, D. L.; PASSOS, R. R.; MENDONÇA, E. de S. Indicadores de qualidade de Latossolo relacionados à degradação de pastagens. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 51, n. 9, p. 1184-1193, set. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000900018>.

LOPES, A. A. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS JUNIOR, F. B. dos; FIGUEIREDO, C. C.; MALAQUIAS, J. V.; SOUZA, L. M.; MENDES, I. C. Temporal variation and critical limits of microbial indicators in oxisols in the Cerrado, Brazil. *Geoderma Regional*, v. 12, p. 72-82, Mar. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2018.01.003>.

LOPES, A. A. de C.; SOUSA, D. M. G. de; CHAER, G. M.; REIS JUNIOR, F. B. dos; GOEDERT, W. J.; MENDES, I. de C. Interpretation of microbial soil indicators as a function of crop yield and organic carbon in Cerrado soils. *CSA News*, v. 58, n. 4, p. 12, Apr. 2013. DOI: <https://doi.org/10.2134/csa2013-58-4-4>.

LOPES, A. A. de C.; SOUSA, D. M. G. de; REIS JÚNIOR, F. B. dos; MENDES, I. C. Air-drying and long-term storage effects on β -glucosidase, acid phosphatase and arylsulfatase activities in a tropical Savannah Oxisol. *Applied Soil Ecology*, v. 93, p. 68-77, Sept. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.04.001>.

MARIN, F. R.; PILAU, F. G.; SPOLADOR, H. F. S.; OTTO, R.; PEDREIRA, C. G. S. Intensificação sustentável da agricultura brasileira: cenários para 2050. *Revista de Política Agrícola*, v. 25, n. 3, p. 108-124, 2016. Disponível em: <https://seer.sede.embrapa.br/index.php/RPA/article/view/1160/1016>. Acesso em: 7 jul. 2022.

MENDES, I. de C.; SOUSA, D. M. G. de; REIS JÚNIOR, F. B. dos; LOPES, A. A. de C. Bioanálise de solo: como acessar e interpretar a saúde do solo. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2018. 23 p. (Embrapa Cerrados. Circular técnica, 38). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/199833/1/CircTec-38-leda-Mendes.pdf>. Acesso em: 7 jul. 2022.

MENDES, I. de C.; SOUZA, L. M. de; SOUSA, D. M. G. de; LOPES, A. A. de C.; REIS JÚNIOR, F. B. dos; LACERDA, M. P. C.; MALAQUIAS, J. V. Critical limits for microbial indicators in oxisols at post-harvest: the FERTBIO soil sample concept. *Applied Soil Ecology*, v. 139, p. 85-93, Jul. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.025>.

PAZUTTI, L. V. V.; CHAER, G. M. Desenvolvimento de metodologia de baixo custo para avaliação de β -glucosidade em solos. Seropédica, RJ: Embrapa Agrobiologia, 2012. 23 p. (Embrapa Agrobiologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 92). Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1002922/desenvolvimento-de-metodologia-de-baixo-custo-para-analise-de-b-glicosidase-em-solos>. Acesso em: 7 jul. 2022.

PEIXOTO, R. S.; CHAER, G. M.; FRANCO, N.; REIS JUNIOR, F. B.; MENDES, I. C.; ROSADO, A. S. A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 98, p. 403-413, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10482-010-9454-0>.

SCOLARI, D. D. G. Produção agrícola mundial: o potencial do Brasil. In: *VISÃO progressista do agronegócio brasileiro*. Brasília, DF: Fundação Milton Campos, 2006. p. 9-86. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/160161/1/Producao-agricola-mundial.pdf>. Acesso em: 7 jul. 2022.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: WEAVER, R. W.; ANGLE, S.; BOTTOMLEY, P.; BEZDICEK, D.; SMITH, S.; TABATABAI, A.; WOLLUM, A. (ed.). *Methods of soil analysis, part 2: microbiological and biochemical properties*. Madison: Soil Science Society of America, 1994. cap. 37, p. 775-833. (SSSA book series, 5). DOI: <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.2.c37>.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. (ed.). *Manual de métodos de análise de solo*. 3. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 574 p. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/181717/1/Manual-de-Metodos-de-Analise-de-Solo-2017.pdf>. Acesso em: 7 jul. 2022.

VALLE, T. R. de S. Níveis de degradação de pastagens e qualidade de solo na região do Médio Vale do Paraíba do Sul. 2018. 107 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Biossistemas) – Universidade Federal Fluminense, Niterói. Disponível em: https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=7504152#. Acesso em: 7 jul. 2022.