

SEÇÃO III - BIOLOGIA DO SOLO

EFEITO DA SATURAÇÃO POR BASES SOBRE A ATIVIDADE DE FOSFATASES EM UM SOLO DE TABULEIRO COSTEIRO CULTIVADO COM CITROS. I. CORRELAÇÕES ENTRE A ATIVIDADE ENZIMÁTICA E AS DIFERENTES CARACTERÍSTICAS DO SOLO ALTERADAS PELA CALAGEM⁽¹⁾

M. F. FERNANDES⁽²⁾, J. L. ANJOS⁽³⁾, L. F. SOBRAL⁽²⁾,
R. P. M. FERNANDES⁽⁴⁾ & A. S. ARAÚJO⁽⁵⁾

RESUMO

Neste trabalho, utilizaram-se amostras de um Podzol cultivado com citros, na Estação Experimental de Umbaúba, Umbaúba-SE (Centro de Pesquisa Agropecuária dos Tabuleiros Costeiros-EMBRAPA), para avaliar a atividade de fosfatases ácidas e alcalinas em solo de tabuleiro costeiro submetido a diferentes porcentagens de saturação por base (32, 45, 68 e 76,6%), bem como as relações entre essas atividades e algumas características do solo. Respostas positivas ao incremento da saturação por bases foram observadas para pH, teor de matéria orgânica, fósforo disponível e atividade de fosfatases ácidas e alcalinas, em seus respectivos valores de pH ótimo de 6,5 e 11,0, ao passo que a biomassa microbiana não foi alterada significativamente por esse fator. Observou-se que a atividade da fosfatase ácida apresentou correlação significativa e positiva com a matéria orgânica e teores de cálcio e de magnésio trocáveis. A resposta das fosfatases alcalinas à saturação foi influenciada pelo pH, pela matéria orgânica, pelos teores de cálcio e de magnésio e pela biomassa microbiana do solo. Nenhuma das duas enzimas apresentou correlação com os teores de fósforo encontrados no solo analisado. No entanto, observou-se inibição da atividade das enzimas, quando a análise foi realizada em uma solução de reação com concentração de 124 µg mL⁻¹ de P.

Termos de indexação: fosfomonoesterase, enzimas do solo, mineralização, fósforo orgânico, tabuleiro costeiro, matéria orgânica.

⁽¹⁾ Recebido para publicação em outubro de 1997 e aprovado em maio de 1998.

⁽²⁾ Pesquisador da EMBRAPA - Centro de Pesquisa Agropecuária dos Tabuleiros Costeiros (CPATC). Av. Beira-Mar, 3250, Caixa Postal 44, CEP 49001-970 Aracaju (SE).

⁽³⁾ Pesquisador da EMDAGRO- Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe e Mestrando em Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Rua D. Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP 52171.900 Recife (PE).

⁽⁴⁾ Professora Assistente do Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Sergipe (UFS). Cidade Universitária Professor José Aloísio Campos, s/n. Rosa Elze, CEP 49100-000 São Cristóvão (SE).

⁽⁵⁾ Estudante de Agronomia do Departamento de Agronomia, UFS. Bolsista da EMBRAPA.

SUMMARY: *EFFECT OF BASE SATURATION ON PHOSPHATASE ACTIVITIES FROM A COASTAL TABLELAND SOIL CULTIVATED WITH ORANGE TREE. I. RELATIONSHIPS BETWEEN ENZYMATIC ACTIVITY AND DIFFERENT SOIL CHARACTERISTIC AFFECTED BY LIMING*

This study was carried out using soil samples collected from a Podzol grown with orange trees, at Estação Experimental de Umbaúba, Umbaúba-SE (CPATC-EMBRAPA), to evaluate the acid and alkaline phosphatases activities from a coastal tableland soil submitted to different base saturation values (32, 45, 68 and 76.6%) and the relationships between soil characteristics and these activities. Positive responses to the increment of base saturation were observed for pH, organic matter content, available phosphorus and acid and alkaline phosphatases activities, in their respective optimum pH values of 6.5 and 11.0. The acid phosphatase activity was significantly and positively correlated with organic matter, calcium and magnesium contents. The response of alkaline phosphatase activity to the base saturation was correlated with pH, organic matter, calcium and magnesium contents and microbial biomass. Neither enzyme showed any relationship with available phosphorus content in the soil. However, it was observed that the activity of these enzymes was repressed by inorganic phosphorus when a high dose ($124 \mu\text{g mL}^{-1}$ of P) of this nutrient was added to the reaction mixture during the analytical determination of enzymatic activity.

Index terms: phosphomonoesterases, soil enzyme, mineralization, organic phosphorus, organic matter.

INTRODUÇÃO

A hidrólise de alguns compostos orgânicos fosfatados, como β -glicerolfosfato, fenilfosfato, β -naftilfosfato, p-nitrofenilfosfato e *myo*-inositol-fosfato, e a atividade de enzimas que catalisam essa reação já foram detectadas em solos (Tabatabai, 1982; Trasar-Cepeda et al., 1991; Findenegg & Nelemans, 1993). Tal hidrólise acarreta a liberação de fosfato inorgânico solúvel que pode ser prontamente absorvido pelas plantas (Findenegg & Nelemans, 1993). O termo fosfatases tem sido usado para descrever um amplo grupo de enzimas que catalisam a hidrólise de ésteres e anidridos do ácido fosfórico (Schmidt & Laskowski, 1961), sendo as hidrolases de monoéster fosfórico as mais amplamente estudadas. Estas últimas são subdivididas em dois grupos: fosfatases alcalinas (EC 3.1.3.1) e fosfatases ácidas (EC 3.1.3.2), de acordo com a faixa de pH na qual a atividade destas é máxima (Tabatabai, 1982).

Embora os solos cultivados de tabuleiro costeiro apresentem baixos teores de matéria orgânica, a cobertura vegetal nativa encontrada em pomares cítricos da região podem representar importante reservatório de fósforo orgânico.

Visto que a calagem altera algumas características do solo determinantes para a atividade enzimática, como o pH, a disponibilidade de cátions e a composição da microbiota (Jensen, 1931; Halstead, 1964; Paulson & Kurtz, 1970), supõe-se que a atividade de fosfatases poderá ser alterada por essa prática agrícola.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da elevação da saturação por bases do solo, por meio da calagem, sobre a atividade de fosfatases ácidas e alcalinas de um solo de tabuleiro costeiro, bem como correlacionar tal atividade com algumas propriedades químicas do solo alteradas pela calagem. Avaliou-se, ainda, o efeito de uma dose elevada de fósforo sobre a atividade dessas duas enzimas.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de solo utilizadas neste experimento foram provenientes de um pomar de laranjeiras-pêras enxertadas sobre limoeiros-cravos, instalado no Campo Experimental de Umbaúba (Umbaúba, SE) do Centro de Pesquisa Agropecuária dos Tabuleiros Costeiros (CPATC-EMBRAPA). Os resultados das análises químicas desse solo, classificado como Podzol, foram: pH em água (1:2,5) = 4,8; matéria orgânica, de acordo com o método de Walkley-Black (Jackson, 1958) = $19,0 \text{ g dm}^{-3}$; P = 5 mg dm^{-3} e K = $0,01 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$, extraídos pelo Mehlich-1, sendo os teores de P determinados por colorimetria (Braga & Defelipo, 1974), e os de K, por fotometria de chama (EMBRAPA, 1997); Ca^{2+} = $1,02 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$, Mg^{2+} = $0,55 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ e Al^{3+} = $0,5 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$, extraídos com KCl 1 mol L^{-1} e determinados por titulometria (EMBRAPA, 1997); Al + H = $2,1 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$, extraídos por acetato de cálcio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e determinados por

titulometria (EMBRAPA, 1997). Os resultados da análise granulométrica, pelo método do densímetro (EMBRAPA, 1997), revelaram os seguintes resultados: areia = 752 g kg⁻¹, silte = 107 g kg⁻¹ e argila = 140 g kg⁻¹.

O pomar foi instalado há 12 anos e há cinco tem sido submetido a adições de calcário que resultaram em saturações por bases de 32,0; 45,0; 68,0 e 76,6% da CTC determinada a pH 7,0, na camada de 0-10 cm. Os tratamentos foram constituídos pelos diferentes níveis de saturação por base, estando dispostos em delineamento em blocos ao acaso, com 5 repetições. Cada parcela experimental foi composta por 4 plantas. Adubações com nitrogênio, fósforo e potássio foram realizadas, sob a projeção da copa, anualmente, com base em análises foliares.

Coletaram-se subamostras de solo em cada uma das 4 plantas da parcela, a uma profundidade de 0-10 cm e a 2,5 m do tronco (projeção da copa), em direção à entrelinha. Essas subamostras foram homogeneizadas de forma a obter-se uma amostra composta de solo para cada parcela do experimento. O solo foi, então, seco à sombra, destorroado e passado através de peneira com malha de 1 mm de abertura. Determinaram-se, nas amostras de solo de cada parcela, as seguintes características químicas: pH (EMBRAPA, 1997), P disponível extraído por Mehlich-1 (Braga & Defelipo, 1974), Ca²⁺ e Mg²⁺ (EMBRAPA, 1997) e matéria orgânica (Jackson, 1958). A biomassa microbiana foi determinada em três repetições, utilizando-se o método da fumação-extração de carbono (Vance et al., 1987).

As atividades das fosfatases foram obtidas pelo método de Tabatabai (1982), determinando-se, por espectrofotometria ($\lambda = 410$ nm), a quantidade de p-nitrofenol liberado após incubação de 1 g de solo em 4 ml de tampão universal modificado (MUB) e 1 ml de solução de p-nitrofenil fosfato (0,025 M), a 37°C, por 1 h. O pH do tampão MUB utilizado nas análises foi de 6,5, para as fosfatases ácidas, e de 11, para as alcalinas (Juma & Tabatabai, 1978; Tabatabai, 1982).

Para avaliar o efeito de altas concentrações do fósforo inorgânico sobre a atividade dessas enzimas, procedeu-se à análise supradescrita, substituindo-se, no entanto, os 4 ml de tampão MUB por 3 ml desse tampão mais 1 ml de solução com 20 μ moles de H₂PO₄, na forma de NaH₂PO₄, ou de água destilada para o tratamento-controle (Juma & Tabatabai, 1978). Essa adição de fósforo corresponde a, aproximadamente, 124 μ g ml⁻¹ de P de solução final da reação.

Análises de variância e ajustamentos de equações de regressão foram utilizados para avaliar e descrever as respostas de todas as características estudadas em função da saturação por bases do solo. Além disto, determinaram-se os coeficientes de correlação das atividades de cada fosfatase com as seguintes características do solo: pH, matéria

orgânica, P disponível, Ca²⁺, Mg²⁺ e biomassa microbiana-C. Para avaliar o efeito da alta dose de fósforo sobre a atividade das fosfatases, em cada um dos valores de saturações por base do solo, utilizaram-se análises de variância e teste de Tukey a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Além do pH e dos teores de cálcio e magnésio trocáveis, o teor de matéria orgânica, o fósforo disponível (Figura 1), as atividades de fosfatases ácidas e alcalinas, avaliadas em seus respectivos valores de pH ótimo de 6,5 e 11,0 (Figura 2), foram incrementados em resposta à elevação da saturação por bases do solo. A biomassa microbiana não apresentou resposta ao aumento da saturação por bases.

Diferentemente do obtido no presente trabalho, Alexander (1977) e Jenkinson (1981) relataram que, em geral, a calagem estimula a microbiota do solo, reduzindo, conseqüentemente, a matéria orgânica dos solos. No presente trabalho, supõe-se que a elevação dos teores de matéria orgânica em resposta à calagem tenha sido resultante do maior crescimento de raízes dos citros e da biomassa da vegetação nativa nas entrelinhas.

A resposta das fosfatases alcalinas à saturação por bases foi mais acentuada do que a das fosfatases ácidas (Figura 2).

A resposta das fosfatases ácidas foi determinada, em certa extensão, pelo incremento nos teores de matéria orgânica, cálcio e magnésio, já que essas características apresentaram correlação com a atividade dessas enzimas (Figura 3). A correlação positiva entre a atividade das fosfatases ácidas e matéria orgânica pode ser explicada por possíveis aumentos na síntese ou na excreção de fosfatases ácidas em solo com maior quantidade de fósforo orgânico. Correlação positiva entre a atividade dessa enzima e o teor de matéria orgânica em 38 amostras de solos americanos já foi observada por Juma & Tabatabai (1978).

A falta de correlação entre o pH do solo e a atividade de fosfatases ácidas não implica, obrigatoriamente, ausência de interferência da acidez do solo sobre essa enzima, já que a determinação da atividade de fosfatase ácida foi feita em tampão com pH 6,5. Nessas condições, o efeito direto da acidez sobre a estabilidade da enzima pode ter sido anulado ou minimizado pelas condições de determinação laboratoriais. No entanto, Juma & Tabatabai (1978) observaram correlação negativa entre o pH do solo e a atividade de fosfatase ácidas, nas condições de pH ótimo de 6,5. Naquele estudo, porém, o gradiente de pH estabelecido entre as diferentes amostras de solo variou aproximadamente,

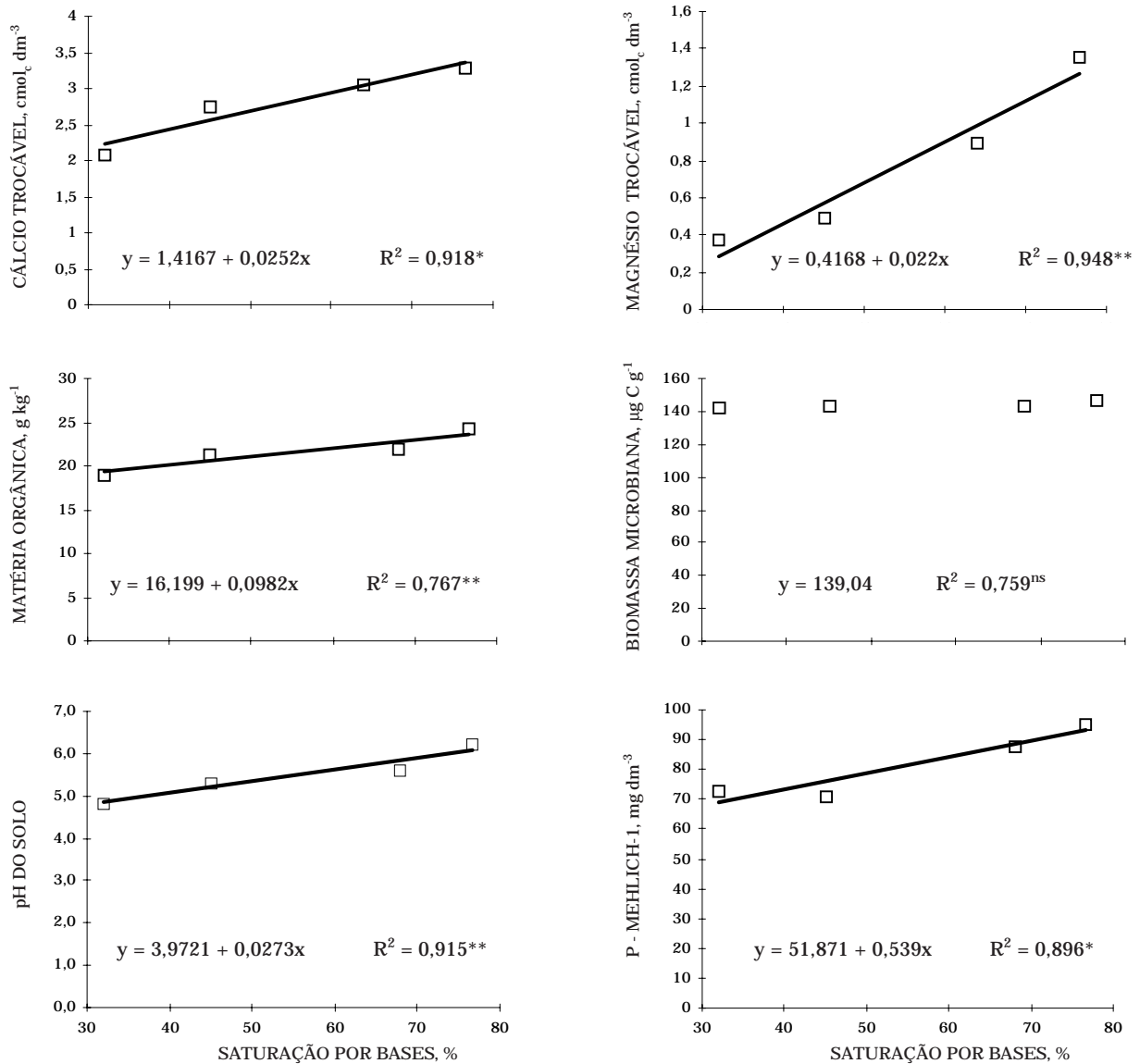


Figura 1. Teores de cálcio e magnésio trocáveis, matéria orgânica, biomassa microbiana-C, pH e fósforo disponível em função da saturação por bases em um solo do tabuleiro costeiro de Umbaúba (SE).

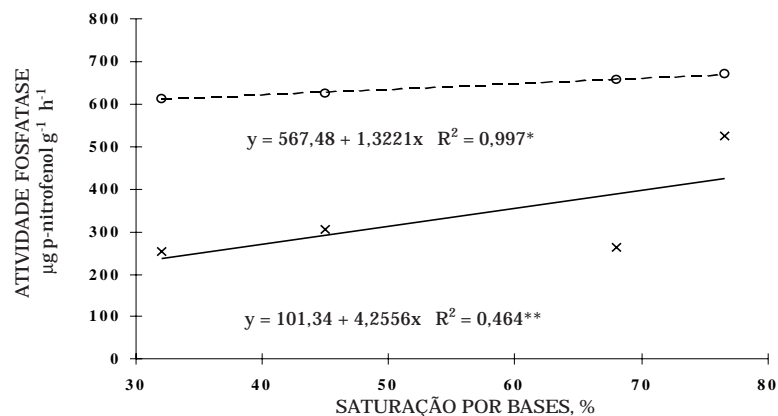


Figura 2. Atividade das fosfatases ácidas (--- o ---) e alcalinas (— x —) em função da saturação por bases em um solo do tabuleiro costeiro de Umbaúba (SE).

de 4,5 a 8,0. O aumento da atividade de fosfatases ácidas em função do incremento de cálcio e magnésio no solo pode ser atribuído ao efeito ativador desses cátions sobre a atividade dessas enzimas (Abd-Alla, 1994).

A resposta das fosfatases alcalinas à saturação por bases foi influenciada pela matéria orgânica, cálcio, magnésio e pH, já que a atividade enzimática apresentou correlação com essas características (Figura 3).

Correlações entre a atividade de fosfatases alcalinas e matéria orgânica também já foram observadas por Juma & Tabatabai (1978).

A correlação observada entre a fosfatase alcalina e o pH pode ser resultante de uma variação qualitativa da microbiota do solo, em função da calagem. O efeito do aumento do pH em resposta à calagem sobre a composição da microbiota do solo foi relatado por diversos autores, que têm mostrado que, em ambientes ácidos, ocorre a dominância de

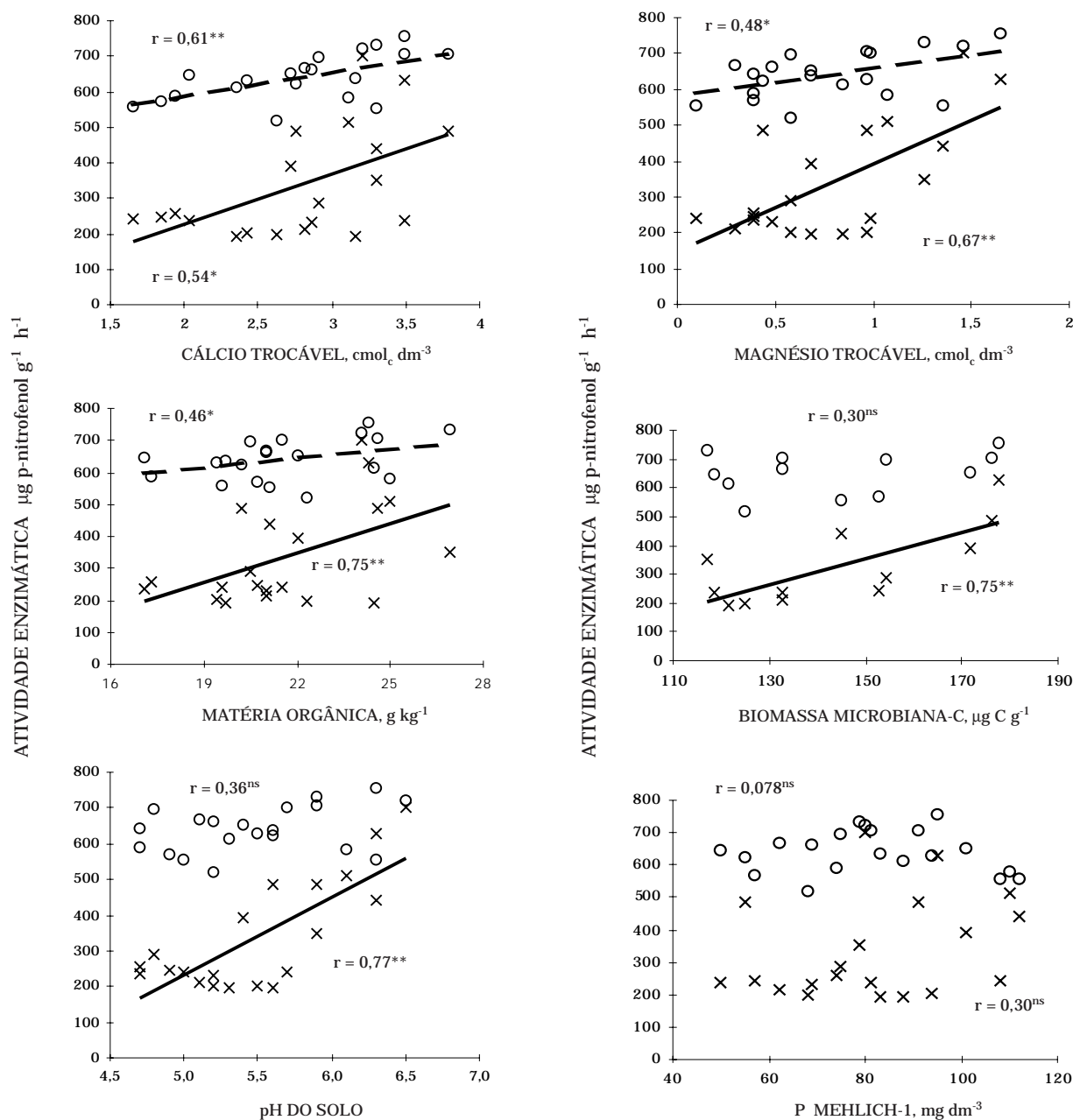


Figura 3. Correlações entre as atividades de fosfatases ácidas (--- o ---) e alcalinas (— x —) e os teores de cálcio e magnésio trocáveis, matéria orgânica, biomassa microbiana-C, pH e fósforo disponível em um solo de tabuleiro costeiro de Umbaúba (SE).

fungos, ao passo que, em ambientes com pH próximo à neutralidade a ligeiramente básico, a predominância é das bactérias (Jensen, 1931; Viro, 1963).

Além disto, o aumento do pH, obtido dentro da faixa de saturações por base avaliada, reduz a solubilidade de Zn^{2+} e Al^{3+} , reconhecidos por Abd-Alla (1994) como potentes inibidores da atividade de fosfatases alcalinas.

O incremento de cálcio e magnésio trocáveis pela calagem também pode ser um dos responsáveis pela resposta positiva da atividade de fosfatases alcalinas à saturação por bases, já que, de acordo com Abd-Alla (1994), tais cátions são ativadores da velocidade catalítica dessa enzima.

Diferentemente da fosfatase ácida, a fosfatase alcalina apresentou alta correlação com a biomassa microbiana (Figura 3), podendo tal diferença ser atribuída ao fato de serem as fosfatases alcalinas no solo produzidas, exclusivamente, por microrganismos (Juma, 1976, citado por Tabatabai, 1982), razão por que se encontram mais estreitamente relacionadas com a biomassa microbiana do que com a atividade de fosfatases ácidas, que são produzidas também por plantas. A síntese e a excreção de fosfatases por raízes já foram relatadas para diversas culturas (Furlani et al., 1984; Dodd et al., 1987; Goldstein et al., 1988). Correlações entre a atividade de fosfatases alcalinas e a intensidade de colonização das raízes

de amendoim e mamoeiro por fungos micorrízicos foram observadas, respectivamente, por Krishna et al. (1983) e Mohandas (1992). Esses mesmos autores, no entanto, não observaram correlação entre a atividade das fosfatases ácidas e a colonização das raízes pelos referidos fungos.

Nenhuma das duas enzimas apresentou correlação com os teores de fósforo disponível no solo (Figura 3). Tal resultado difere de outros encontrados na literatura que relatam a inibição das fosfatases pelo ânion fosfato (Halstead, 1964; Woolhouse, 1969; Juma & Tabatabai, 1978). A ausência de inibição pode ser explicada pelo estreito gradiente de fosfato obtido nas amostras de solo avaliadas. Essa hipótese pôde ser confirmada pelos resultados obtidos com o experimento, no qual foram avaliadas as atividades das duas enzimas na presença de alta concentração de fósforo inorgânico ($124 \mu\text{g mL}^{-1}$ de P de solução de reação). A inibição média obtida para as fosfatases ácidas e alcalinas, em função da adição do fósforo, foi de 11 e 57%, respectivamente, independentemente da saturação de bases (Figura 4). De acordo com Juma & Tabatabai (1978), a intensidade de inibição é determinada pela concentração do ortofosfato no solo, podendo esse nutriente reduzir a velocidade de mineralização do fósforo orgânico dos solos. Segundo esses autores, o ortofosfato é um inibidor competitivo das fosfatases ácidas e alcalinas.

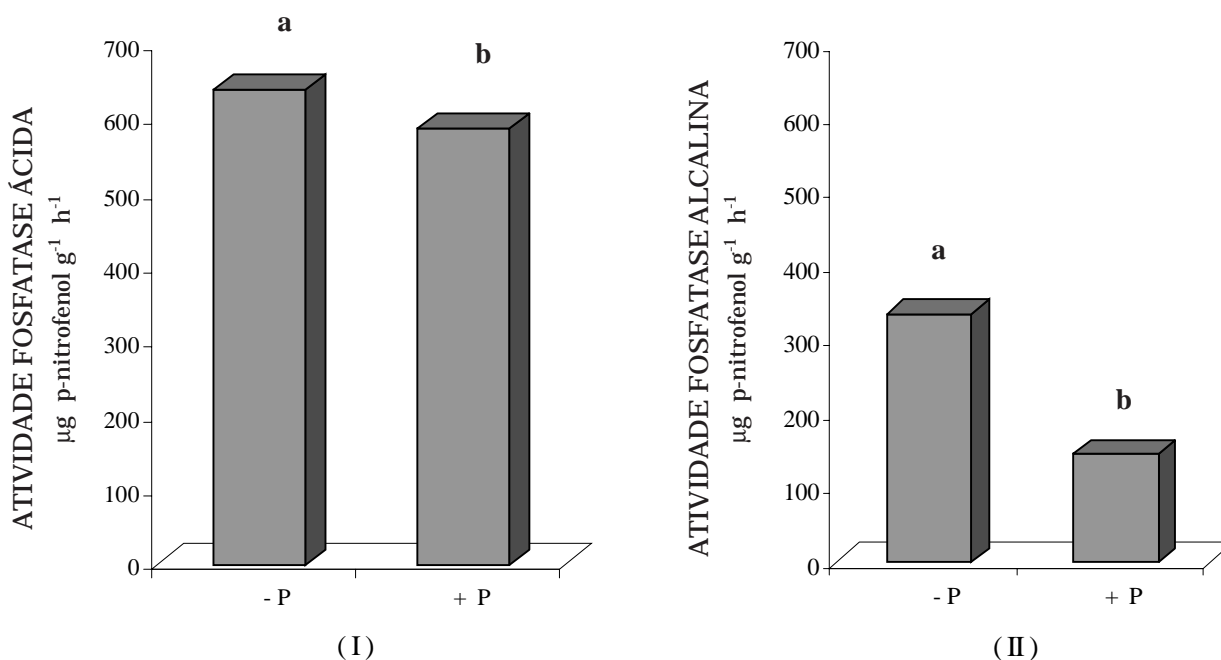


Figura 4. Efeito da adição de 124 mg de fósforo inorgânico por mL da mistura de reação sobre a atividade de fosfatases ácidas (I) e alcalinas (II). Em cada gráfico as barras com mesma letra diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

1. A atividade de fosfatases ácidas e alcalinas foi estimulada pelo incremento da saturação por bases do solo, sendo esse estímulo mais acentuado para a fosfatase alcalina.

2. A resposta de fosfatases ácidas ao incremento da saturação por bases foi influenciada pelas alterações causadas pela calagem sobre os teores de matéria orgânica, cálcio e magnésio do solo.

3. A resposta de fosfatases alcalinas ao incremento da saturação por bases foi influenciada pelas alterações causadas pela calagem sobre o pH, sobre a biomassa microbiana e sobre os teores de matéria orgânica, cálcio e magnésio.

4. As elevadas doses de fósforo inorgânico no solo inibem a atividade de fosfatases ácidas e alcalinas, independentemente da saturação por bases.

LITERATURA CITADA

- ABD-ALLA, M.H. Use of organic phosphorus by *Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae* phosphatases. *Biol. Fertil. Soils*, 18:216-218, 1994.
- ALEXANDER, M. Introduction to soil microbiology. New York, John Wiley & Sons, 1977. 467p.
- BRAGA, J.M. & DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solo e material vegetal. *R. Ceres*, 21:73-85, 1974.
- DODD, J.C.; BURTON, C.C.; BURNS, R.G. & JEFFRIES, P. Phosphatase activity associated with the roots and the rhizosphere of plants infected with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.*, 107:163-172, 1987.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solo. Rio de Janeiro, 1997. 212p. (EMBRAPA-CNPS. Documentos, 1)
- FINDENEGG, G.R. & NELEMANS, J.A. The effect of phytase on the availability of P from *myo*-inositol hexaphosphate (phytate) for maize roots. *Plant Soil*, 154:189-196, 1993.
- FURLANI, A.M.C.; CLARK, R.B.; MARANVILLE, J.W. & ROSS, W.M. Root phosphatase activity of sorghum genotypes grown with organic and inorganic sources of phosphorus. *J. Plant Nutr.*, 7:1583-1595, 1984.
- GOLDSTEIN, A.H.; BAERTLEIN, D.A. & McDANIEL, R.G. Phosphate starvation inducible metabolism in *Lycopersicon esculentum*. I. Excretion of acid phosphatase by tomato plants and suspension-cultured cells. *Plant Physiol.*, 87:711-715, 1988.
- HALSTEAD, R.L. Phosphatase activity of soils as influenced by liming and others treatments. *Can. J. Soil Sci.*, 44:137-144, 1964.
- JACKSON, M.L. Soil chemical analysis. New Jersey, Prentice Hall, 1958. 498p.
- JENKINSON, D.S. The fate of plant and animal residues in soil. In: GREENLAND, D.J. & HAYNES, M.H.B. ed. The chemistry of soil processes. Chichester, John Wiley, 1981. p.505-561.
- JENSEN, H.L. The fungus flora of the soil. *Soil Sci.*, 3:123-158, 1931.
- JUMA, N.G. & TABATABAI, M.A. Distribution of phosphomonoesterases in soils. *Soil Sci.*, 126:101-108, 1978.
- KRISHNA, K.R.; BAGYARAJ, D.J. & PAPA VINASASUNDARAM, K.G. Acid and alkaline phosphatase activities in mycorrhizal and uninfected roots of *Arachis hypogaea* L. *Ann. Bot.*, 51:551-553, 1983.
- MOHANDAS, S. Effect of VAM inoculation on plant growth, nutrient level and root phosphatase activity in papaya (*Carica papaya* cv. Coorg Honey Dew). *Fert. Res.*, 31:263-267, 1992.
- PAULSON, K.N. & KURTZ, L.T. Michaelis constant of soil urease. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, 34:70-72, 1970.
- SCHMIDT, G. & LASKOWSKI, M. Phosphate ester cleavage (survey) In: BOYER, P. D.; LARDY, H. & MYRBACK, eds. The enzymes. New York, Academic Press, 1961. p.3-35.
- TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: BLACK, C. A., ed. Methods of soil analysis chemical and microbiological properties, part 2. Madison, American Society of Agronomy, 1982. p.903-947.
- TRASAR-CEPEDA, M.C; CARBALLAS, T; GI L-SOTRES, F. & de BLAS, E. Liming and the phosphatase activity and mineralization of phosphorus in na andic soil. *Soil Biol. Biochem.*, 23:209-215, 1991.
- VANCE, E.D.; BROOKES, P.C. & JENKISON, D.S. Na extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.*, 19:703-707, 1987.
- VIRO, P.Y. Factorial experiments of forest humus decomposition. *Soil Sci.*, 95:24-30, 1963.
- WOOLHOUSE, H.W. Differences in the properties of the acid phosphatases of plant roots and their significance in the evolution of edaphic ecosystem. In: ROVISON, I.H. ed. Ecological aspects of the mineral nutrition of plants. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1969. p.357-380.