

Relatório sobre efeito do BacSol sobre a qualidade do solo

Responsáveis Técnicos:

Dr. Rafael Leandro de Figueiredo Vasconcellos

Dr. Rafael Vicente de Pádua Ferreira

Apoio:

**Laboratório de Microbiologia e Bioquímica do Solo / ESALQ /
USP**

Novembro de 2018

A – Qualidade do Solo

A. – Indicadores de Qualidade do Solo

O solo é, geralmente, um ambiente com alta diversidade microbiana. Estima-se que em um grama de solo existam mais de 10 mil espécies de bactérias e quilômetros de hifas fúngicas. Esses micro-organismos que habitam o solo possuem diversas funções. Alguns são importantes para manter as condições físicas do solo de modo a ajudar na formação de agregados do solo; outros estão relacionados à ciclagem de nutrientes como fixação biológica de nitrogênio, disponibilização de fosforo imobilizado no solo e nos compostos orgânicos, mineralização de enxofre e outros nutrientes. Além disso, muitos estão relacionados à promoção do crescimento das plantas agindo sobre o solo e diretamente nas plantas no controle de doenças, produzindo hormônios de crescimento ou ainda facilitando o acesso a nutrientes do solo.

A qualidade do solo pode ser definida como a capacidade do solo em exercer suas funções de produtividade, agir de forma a melhorar a qualidade do ar e da água e trazer saúde aos animais e plantas (Doran, 1997). Para encontrar se um solo está exercendo de forma correta suas funções na luz da qualidade edáfica, podem-se abrir mão de análise de indicadores de qualidade do solo.

Os indicadores do solo podem ser tanto de origem física, química ou biológica. As variações físicas do solo como alteração de densidade, porosidade e agregados ou químicas como teor de nutrientes e carbono são menos sensíveis às variações ambientais e por mais difíceis verificar algum efeito sobre a qualidade do solo, apesar de serem úteis. Contudo, os micro-organismos são extremamente sensíveis a alterações pontuais no solo e também interagem diretamente com os indicadores químicos e físicos do solo e, por isso, são excelentes ferramentas de análise de qualidade do solo. Destacam-se aqui a análise de atividade de enzimas relacionadas a ciclagem de nutrientes como Arilsulfatase, Fosfatases, Beta-glicosidades, urease, amilase dentre outras e também biomassa microbiana e respiração basal.

Assim o objetivo principal desse trabalho foi analisar o efeito do biofertilizante BacSol sobre o qualidade do solo, sugerindo os indicadores biológicos relacionados ao uso desse biofertilizante.

B – Metodologia experimental

Para esse relatório foram analisados os atributos químicos do solo sendo: pH em CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹; fósforo (P) método colorimétrico extraído com resina trocadora de íons, enxofre (S) determinação por turbidimetria e extração com fosfato de cálcio 0,01 mol L⁻¹, potássio (K) extração com resina trocadora de íons e determinação em espectrofotômetro de emissão atômica, cálcio (Ca) e magnésio (Mg) método: extração com resina trocadora de íons e determinação em espectrofotômetro de absorção atômica, acidez potencial (H+Al) extraído com tampão SMP (Manual de análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. IAC, 2001). SB: Soma de bases trocáveis; CTC: Capacidade de troca de cátions; V: Saturação da CTC por bases. N-Total extraído pelo método de Kjeldahl (Manual de análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. IAC, 2001). Formas de Nitrogênio Inorgânico (NH₄ e NO₃) extraído pelo método de destilação a vapor (BREMNER, J.M. Inorganic forms of nitrogen. In: C.A. Black (ed.) Methods of soil analysis. Part 2 . Chemical and microbiological properties. Madison, American Society of Agronomy, 1965. p. 1179-1237).

Os atributos microbiológicos analisados foram a atividade das enzimas Arilsulfatase, Beta-Glicosidase, Fosfatase ácida e também carbono da biomassa, respiração basal e os índices de estresse do solo como quociente metabólico (qCO₂) e quociente microbiano (C_{mic}/C_{org}). As metodologias foram feitas como se segue: as quantificações das atividades enzimáticas baseiam-se na determinação colorimétrica da p-nitrofenol após a incubação do solo com uma solução tamponada com substrato específico para arilsulfatase, fosfatase ácida e beta- glicosidase sendo estes p-nitrofenil sulfato (PNS), p-nitrofenil fosfato (PNF) e p- nitrofenil-β-D-glicopiranosídeo (PNG), respectivamente (TABATABAI, 1994). Os valores obtidos em leitura realizada no espectrofotômetro a 410 nm, são interpolados em uma curva padrão com concentrações de p-nitrofenol padrão, para que sejam determinadas as atividades de arilsulfatase, fosfatase.

O carbono da biomassa refere-se à fração do C “vivo” do solo, proveniente das células microbianas. A biomassa microbiana é considerada um reservatório de nutrientes no solo, além de atuar nas suas propriedades físicas, como a agregação. Nesse método determina-se o C proveniente da biomassa após fumigação do solo com

clorofórmio (livre de álcool) e extração com sulfato de potássio (K_2SO_4 0,5M), contra um extrato proveniente do respectivo controle não fumigado (VANCE et al., 1987). O resultado é obtido pela diferença solo.hora-1 e μg PNG. g-1 de solo.hora-1. A análise de respirometria avalia a atividade microbiana aeróbia em amostras de solos, devido a degradação da matéria orgânica presente nesta, e o CO_2 é liberado durante a atividade respiratória microbiana. Para a montagem do experimento foram pesados 100 g de solo de cada amostra. Em seguida, os frascos contendo as amostras foram mantidos em temperatura ambiente, com umidade ajustada para a capacidade de campo e incubadas por 5 dias. A determinação do CO_2 é realizada por meio de contato com uma solução de NaOH, e posteriormente quantificado por titulação do NaOH remanescente na solução após incubação (ALEF, 1995)

Para análise estatística foi feita análise de variância entre os tratamentos Com BacSol e Sem BacSol. Também foi feita uma análise de correlação entre os atributos químicos e microbiológicos do solo para ambos os tratamentos. Os dados foram comparados na literatura para se determinar quais atributos o BacSol alterou positivamente. Por fim foi feita uma análise de dados multivariada para demonstrar como o BacSol foi importante para separar os solos tratados dos não tratados quanto a atividade enzimática e outros indicadores do solo.

C – Resultados Obtidos e Comentários

Os tratamentos

Os tratamentos foram separados em tratados com BacSol vs não-tratados com BacSol (Sem BacSol). Foram feitas análise química completa dos solos (pH ($CaCl_2$), Matéria Orgânica, Fósforo, Enxofre, Nitrogênio Total, N- NO_3 , Potássio, Cálcio, Magnésio H+Al, SB, CTC e V%) e análise microbiológica (Carbono da Biomassa, respiração, Arilsulfatase, Beta-Glicosidase, Fosfatase ácida, qCO_2 e quociente microbiano). Os dados foram confrontados por meio de análise de variância e também por meio de análise de correlação entre os atributos químicos e microbiológicos do solo. Por fim, foi feita uma análise de componentes principais para se detectar as interações entre os atributos do solo e os sítios tratados e não tratados com BacSol. Os sítios tratados e não-tratados com BacSol são:

- 1- João Nascimento Faz Quebra anzol 8anos de Bacsol Adubação reduzida. **8 anos com BacSol**
- 2- Josmar Nascimento Fz. Bonifacio Serra do Salitre MG Adubação 2300.00kg/ha (19 :4 :19)
- 3- José Ferreira do Nascimento Fz. Bonifácio Serra do Salitre MG Adubação reduzida. **8 anos de Bacsol**
- 4- Alan Gaspar Fz. Quebra Anzol 1° ano de bacsol Adubo organomineral (8:2:6), 1000kg/ha mais amiorgan. **1 ano com BacSol**
- 5- Produtor Valdir Covre Fz. Nossos Remédios Adubação normal.
- 6- Prod. Osvalmir Covre Fz. Monte Belo Adubação normal
- 7- Prod. José Eustáquio de Araújo Fz. Campinho e Macacos Matutina MG 4anos de bacsol com adubação reduzida. **4 anos com Bacsol**
- 8- Prod. Frederico Matutina MG Adubação normal 2500kg/ha (19:04:19)
- 9- Prod. André Teruel Fz. Rancho Alegre Estrela do Sul MG **2 anos com BacSol**
- 10- Produtor João Estrela do Sul Adubação normal.

Análise Química do Solo

A partir dos resultados encontrados pela análise química do solo (Tabela 1) não foi observada diferença significativa entre os tratamentos Com Bacsol e Sem Bacsol, com exceção do enxofre do solo que foi estatisticamente menor ($p < 0,07$) no tratamento Com Bacsol. Isso indica um efeito maior da atividade da microbiota na imobilização desse nutriente e ao mesmo tempo um efeito das etapas de adubação observadas nos tratamentos Sem BacSol.

Os dados sugerem que mesmo sem adubação o uso do BacSol foi capaz de suprir os nutrientes essenciais para a produção sem a necessidade de adubação. Isso indica um efeito do BacSol sobre a ciclagem de nutrientes disponibilizando-os. Traz, portanto, um grande avanço na redução de custo de produção.

Tabela 1. Resultados comparativos da análise química do solo entre os tratamentos Solos com BacSol e Solos sem BacSol

Determinações	Com BacSol	Sem BacSol	p Valor
pH (CaCl ₂)	4,84±0,47	4,74±0,48	0,749
Matéria Orgânica	40,8±6,4	48,2±16,5	0,377
Fósforo (mg dm ⁻³) *	67,8±32	68,5±44,8	0,979
Enxofre (mg dm⁻³)**	53,0±45,1	133,2±73,3	0,071
Nitrogênio Total (mg kg ⁻¹)	2199,0±543,1	2632,0±828,9	0,358
N-NO ₃ (mg kg ⁻¹)	71,6±13,9	102,0±54,9	0,264
Potássio (mmol _c .dm ⁻³)	4,0±1,5	4,1±1,0	0,922
Cálcio (mmol _c .dm ⁻³)	42,2±25,0	51,6±55,8	0,74
Magnésio (mmol _c .dm ⁻³)	10,0±6,1	11,0±10,1	0,854
H+Al (mmol _c .dm ⁻³)	27,4±7,2	32,6±10,1	0,376
SB (mmol _c .dm ⁻³)	56,2±31,5	66,7±65,4	0,755
CTC (mmol _c .dm ⁻³)	83,6±28,7	99,3±61,4	0,619
V (%)	64,0±16,2	58,8±20,4	0,667

** - Apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Métodos: pH em CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹; fósforo (P) método colorimétrico extraído com resina trocadora de íons, enxofre (S) determinação por turbidimetria e extração com fosfato de cálcio 0,01 mol L⁻¹, potássio (K) extração com resina trocadora de íons e determinação em espectrofotômetro de emissão atômica, cálcio (Ca) e magnésio (Mg) método: extração com resina trocadora de íons e determinação em espectrofotômetro de absorção atômica, acidez potencial (H+Al) extraído com tampão SMP (Manual de análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. IAC, 2001). SB: Soma de bases trocáveis; CTC: Capacidade de troca de cátions; V: Saturação da CTC por bases. N-Total extraído pelo método de Kjeldahl (Manual de análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. IAC, 2001). Formas de Nitrogênio Inorgânico (NH₄ e NO₃) extraído pelo método de destilação a vapor (BREMNER, J.M. Inorganic forms of nitrogen. In: C.A. Black (ed.) Methods of soil analysis. Part 2 . Chemical and microbiological properties. Madison, American Society of Agronomy, 1965. p. 1179-1237).

Análise Microbiológica do Solo

A partir da análise microbiológica do solo, observa-se que o tratamento com BacSol teve efeito sobre a atividade das enzimas Arilsulfatase ($p < 0,09$) e Beta-Glicosidase ($p < 0,02$) (Tabela 2). Isso indica um aumento da atividade dos micro-organismos sobre a mineralização de enxofre orgânico e da quebra de compostos orgânicos aumentando assim a disponibilidade de nutrientes para a microbiota do solo e para as plantas pelo processo de mineralização.

Os micro-organismos e suas atividades no solo são considerados excelentes indicadores de qualidade por serem mais sensíveis às mudanças edáficas que os atributos físicos e químicos do solo. Esses atributos microbiológicos se relacionam com os atributos físicos e químicos do solo que em conjunto podem ter efeito direto sobre a

produtividade. Lopes et al (2013) ao avaliarem enzimas como Fosfatase acida, Arilsulfatase, Beta-Glicosidase e outros indicadores como Biomassa de Carbono Microbiano e respiração basal encontraram relação desses com a produtividade de soja e milho em solos do Cerrado.

Considerando que os solos tratados com BacSol apresentaram maior atividade de Arilsulfatase e Beta-Glicosidase apresentaram valores adequados para maior produtividade, ao passo que os tratamentos sem Bacsol apresentaram valores moderados para produtividade conforme observado em Lopes et al (2013) (Tabela 3).

É importante observar que com BacSol a atividade da Arilsulfatase está nos valores relacionados com a maior produtividade. Já os tratamentos sem bacsol apresentaram valores moderados (Tabela 3). A Arilsulfatase tem a importante ação no solo de mineralizar o enxofre orgânico deixando-o disponível para as plantas, sendo fundamental para várias culturas como soja e milho (Nogueira e Melo, 2003). A Beta-glicosidase participa diretamente da ciclagem do carbono e está relacionada na quebra final da celulose. Por isso, esta diretamente ligada a fertilidade do solo e disponibilidade de fontes de carbono para microbiota do solo. É uma enzima sensível às variações do ambiente relacionado à mudança do uso da terra. O uso do Bacsol se mostrou eficiente no aumento da atividade dessa enzima nos plantios avaliados indicando seu papel na mineralização de nutrientes do solo.

Apesar de valores terem sido moderados para os tratamentos com Bacsol e Sem Bacsol, observa-se que os valores dos tratamentos sem Bacsol estão bem próximos do nível Baixo (Tabela 3), o que não se observa no tratamento com Bacsol.

Tabela 2 Resultados comparativos da análise microbiológica do solo entre os tratamentos Solos com BacSol e Solos sem BacSol

Determinação	Com BacSol	Sem Bacsol	p Valor
Arilsulfatase* ($\mu\text{g PNS. g}^{-1} \text{ solo. hora}^{-1}$)	104,4 \pm 31,1	71,4 \pm 13,19	0,09
Fosfatase ácida ($\mu\text{g PNF. g}^{-1} \text{ solo. hora}^{-1}$)	438,6 \pm 89,7	437,2 \pm 131,2	0,98
Beta-glicosidase** ($\mu\text{g PNG. g}^{-1} \text{ solo. hora}^{-1}$)	98 \pm 17,5	68,7 \pm 9,3	0,02
CBM ($\text{mg C. g}^{-1} \text{ solo}$)	0,69 \pm 0,3	0,79 \pm 0,2	0,484
CO₂ ($\text{mg CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ solo / 5 dias}$)	0,14 \pm 0,03	0,15 \pm 0,05	0,815
qCO₂ ($\text{mg CO}_2\text{-C g}^{-1}\text{Cmic h}^{-1}$)	1,84 \pm 0,8	1,51 \pm 0,45	0,45
Cmic/Corg	16,91 \pm 6,3	17,68 \pm 6,65	0,856

*diferença significativa entre os tratamentos pela ANOVA $p < 0,1$, ** diferença significativa entre os tratamentos pela ANOVA $p < 0,05$. As quantificações das atividades enzimáticas baseiam-se na determinação colorimétrica da p-nitrofenol após a incubação do solo com uma solução tamponada com substrato específico para arilsulfatase, fosfatase ácida e beta- glicosidase sendo estes p-nitrofenil sulfato (PNS), p-nitrofenil fosfato (PNF) e p- nitrofenil- β -D-glicopiranosídeo (PNG), respectivamente (TABATABAI, 1994). Os valores obtidos em leitura realizada no espectrofotômetro a 410 nm, são interpolados em uma curva padrão com concentrações de p-nitrofenol padrão, para que sejam determinadas as atividades de arilsulfatase, fosfatase. O carbono da biomassa refere-se à fração do C “vivo” do solo, proveniente das células microbianas. A biomassa microbiana é considerada um reservatório de nutrientes no solo, além de atuar nas suas propriedades físicas, como a agregação. Nesse método determina-se o C proveniente da biomassa após fumigação do solo com clorofórmio (livre de álcool) e extração com sulfato de potássio (K_2SO_4 0,5M), contra um extrato proveniente do respectivo controle não fumigado (VANCE et al., 1987). O resultado é obtido pela diferença solo.hora-1 e $\mu\text{g PNG. g}^{-1}$ de solo.hora-1. A análise de respirometria avalia a atividade microbiana aeróbia em amostras de solos, devido a degradação da matéria orgânica presente nesta, e o CO_2 é liberado durante a atividade respiratória microbiana. Para a montagem do experimento foram pesados 100 g de solo de cada amostra. Em seguida, os frascos contendo as amostras foram mantidos em temperatura ambiente, com umidade ajustada para a capacidade de campo e incubadas por 5 dias. A determinação do CO_2 é realizada por meio de contato com uma solução de NaOH, e posteriormente quantificado por titulação do NaOH remanescente na solução após incubação (ALEF, 1995)

Tabela 3 – Relação de interação entre enzimas Arilsulfatase e Beta-Glicosidase com a produtividade considerando os dados de Lopes et al. (2013)

Atividade (Enzimas)	Relação com a Produtividade		
	Baixo	Moderado	Alto
Arilsulfatase	≤ 40	41 - 90 Sem Bacsol	> 90 Com Bacsol
Beta-Glicosidase	≤ 65	65 - 115 (68) Sem Bacsol	> 115 Com Bacsol

Interação Atributos Químicos x Microbiológicos do Solo (Com BacSol vs Sem BacSol)

Para mostrar o efeito de interação entre as enzimas estudadas e os atributos químicos do solo foram feitas uma análise de correlação e outra de componentes principais.

Pela análise de correlação linear observa-se a alta correlação entre a enzima Arilsulfatase com o enxofre, a CTC e o N total do Solo nos solos tratados com BacSol. Isso não se observa nos tratamentos sem BacSol (Tabela 4). Para Beta-Glicosidase observa-se uma relação para o solo tratado com BacSol com pH do solo, com fósforo, com enxofre e com o V %, indicando o efeito dessa enzima na disponibilidade de nutrientes do solo. O mais importante é que esse efeito (correlação) é observado somente no tratamento com BacSol.

O carbono da biomassa teve maior correlação com M.O e com o N-NO₃- no tratamento com BacSol, mas não para Fosforo, CTC e V%. A biomassa do solo é muito dependente dos nutrientes presentes no solo. Um solo com menor teor de nutrientes terá maior dependência da biomassa aos nutrientes que forem disponibilizados. Com BacSol, pelos dados observados, ocorre maior ciclagem de nutrientes e por isso a biomassa microbiana fica menos dependente de fontes extras de nutrientes.

Quanto à atividade da fosfatase ácida, observa-se alta correlação para matéria orgânica e magnésio no solo tratado com BacSol. O solo com maior concentração de nutrientes disponíveis reduz a dependência de atividade enzimática para disponibilizar nutrientes.

Tabela 4. Análise de correlação entre os atributos químicos e microbiológicos tratados e não tratados com BacSol (entre parêntesis).

Atributos Químicos	Arilsulfatase	Fosfatase Ácida	Beta-Glicosidade	CBM	CO ₂
pH (CaCl ₂)	0,24 (0,17)	0,78 (0,90)	0,83 (0,18)	0,35 (0,31)	0,04 (0,45)
M.O.	0,50 (0,29)	0,69 (0,47)	0,31 (0,37)	0,58 (0,33)	0,41 (0,06)
Fósforo	0,34 (0,02)	0,19 (0,18)	0,84 (0,00)	0,46 (0,94)	0,41 (0,24)
Enxofre	0,82 (0,16)*	0,17 (0,97)	0,80 (0,21)	0,04 (0,42)	0,41 (0,70)
Potássio	0,40 (0,47)	0,64 (0,93)	0,76 (0,61)	0,21 (0,10)	0,06 (0,19)
Magnésio	0,26 (0,05)	0,98 (0,26)	0,51 (0,01)	0,79 (0,91)	0,25 (0,30)
H+AL	0,21 (0,68)	0,96 (0,87)	0,61 (0,56)	0,40 (0,53)	0,02 (0,63)
SB	0,53 (0,02)	0,50 (0,18)	0,37 (0,00)	0,35 (0,92)	0,34 (0,15)
CTC	0,69 (0,01)	0,46 (0,15)	0,23 (0,00)	0,42 (0,83)	0,54 (0,15)
V%	0,30 (0,17)	0,63 (0,49)	0,93 (0,09)	0,26 (0,83)	0,08 (0,43)
N Total	0,58 (0,20)	0,12 (0,69)	0,05 (0,31)	0,13 (0,15)	0,91 (0,11)
N-NO ₃ ⁻	0,46 (0,28)	0,66 (0,78)	0,37 (0,38)	0,92 (0,13)	0,38 (0,58)

*em negrito houve correlação significativa para um ou ambos os tratamentos

Para mostrar uma visão holística da relação dos solos tratados com BacSol foi feita uma análise multivariada (Figura 1). Os resultados mostram que os atributos do solo como pH, MO, SB e Mg possuem maior relação com a atividade das enzimas Arilsulfatase e Beta-Glicosidade. Além disso, é importante observar pelo círculo que circunda os sítios 1, 4 e 7 que foram tratados com BacSol estarem mais ligados a essas variáveis. Ao passo que os tratamentos não tratados com BacSol (2, 5 e 10) se uniram ao lado oposto das flechas apresentadas (p valor <0,014). Sugere assim, menor contribuição do manejo tradicional à ciclagem de nutrientes e a atividade microbiana do solo.

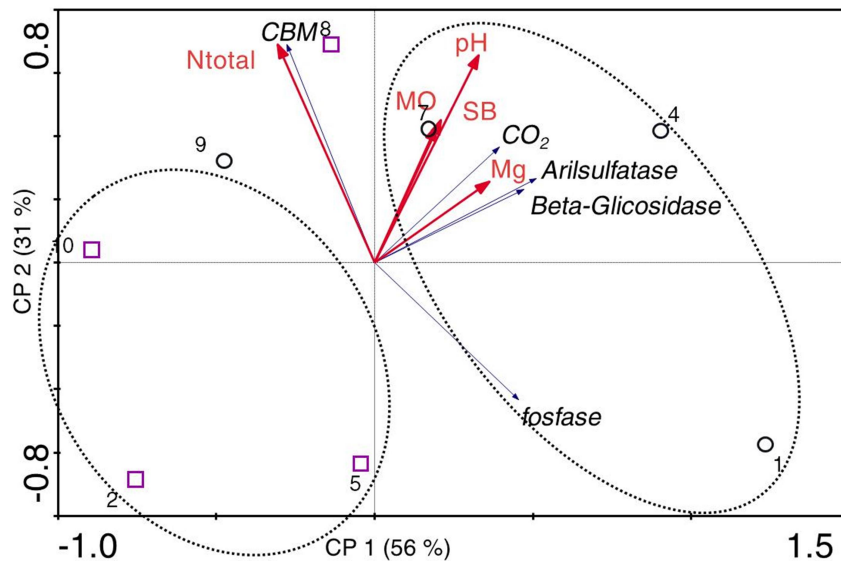


Figura 1. Análise de Redundância Canônica (RDA) entre os dados químicos do solo (Nitrogênio Total – Ntotal, Matéria Orgânica –MO, pH, Saturação de Bases – SB, Concentração de Mg – Mg) e microbiológicos (Carbono da Biomassa Microbiana – CBM, Respiração Basal – CO₂, Atividade da Arilsulfatase- Arilsulfatase, Atividade da Beta-Glicosidase – Beta-Glicosidase e Atividade da Fosfatase Ácida – fosfase) considerando os sítios tratados com BacSol(1, 4, 7 e 9) e não tratados com BacSol (2, 5, 8 e 10)

Conclusão

Os solos tratados com BacSol apresentaram teores de nutrientes semelhantes aos solos não tratados, mesmo sem a adição de fertilizantes convencionais. Isso sugere redução de custo com fertilizantes em longo prazo. Além disso, o BacSol estimulou a atividade das enzimas Arilsulfatase e Beta-Glicosidade, relacionadas com a ciclagem de enxofre e carbono orgânico, respectivamente. Isso sugere um importante papel do BacSol na mineralização de nutrientes para a plantas reduzindo assim a necessidade de adubação mais severa conforme observado nos controles sem adição de BacSol.

Referências

Alef, K. Soil respiration. In: Alef, K, Nannipieri, P. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. London: Academic Press, p 214-219. 1995

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. Soil Science Society of America Journal, v.77, p.461-472, 2013. <http://dx.doi.org/10.2136/sssaj2012.0191>

Nogueira, M. A.; Melo, W. J. Enxofre disponível para a soja e atividade de arilsulfatase em solo tratado com gesso agrícola. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 27(4), p. 655-663. 2003. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832003000400010>

Tabatabai, M.A. Soil enzymes. In: R.W. Weaver et al. (ed.). Methods of soil analysis. Part 2. Microbiological and biochemical properties. SSSA Book Ser. 5 SSSA, Madison. P 778-833, 1994.

Vance, E.D.; Bookes, P.C.; Jenkinson, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C, Soil Biology and Biochemistry, v 19 (6), p. 703-707. 1987. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90052-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90052-6)