



**IMPACTO DO BIOCHAR DE CAFÉ SOBRE AS ATIVIDADES ENZIMÁTICAS E  
BIOMASSA MICROBIANA EM NEOSSOLO CULTIVADOS COM MILHO E  
FEIJÃO**

**ARGEMIRO PEREIRA MARTINS FILHO**

GARANHUNS - PE

JULHO - 2017



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM PRODUÇÃO AGRÍCOLA**

**IMPACTO DO BIOCHAR DE CAFÉ SOBRE AS ATIVIDADES ENZIMÁTICAS E  
BIOMASSA MICROBIANA EM NEOSSOLO CULTIVADOS COM MILHO E  
FEIJÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em PRODUÇÃO AGRÍCOLA da Unidade Acadêmica de Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em PRODUÇÃO AGRÍCOLA.

**Área de Concentração:** PRODUÇÃO AGRÍCOLA

ARGEMIRO PEREIRA MARTINS FILHO

**Orientador:** ÉRIKA VALENTE DE MEDEIROS

**Co-orientadores:** JOSÉ ROMUALDO DE SOUSA LIMA

CLAUDE HAMECKER

GARANHUNS - PE

JULHO - 2017

M386i Martins Filho, Argemiro Pereira

Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão / Argemiro Pereira Martins Filho. - 2017.  
82 f.:il.

Orientador: Érika Valente de Medeiros.

Coorientadores: José Romualdo de Sousa Lima; Claude Hamecker.

Dissertação ( Mestrado em Produção Agrícola ) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós - Graduação em Produção Agrícola, Garanhuns, BR - PE, 2017.

Inclui referências

1. Solo - Cultivo 2. Química do solo 3. Solos - Produtividade  
4. Urease 5. Resíduos como fertilizante I. Medeiros, Érika, Valente de, orient. II. Lima, José Romualdo de Sousa; Hamecker, Claude coorient.

CDD 631.4

**IMPACTO DO BIOCHAR DE CAFÉ SOBRE AS ATIVIDADES ENZIMÁTICAS E  
BIOMASSA MICROBIANA EM NEOSSOLO CULTIVADOS COM MILHO E  
FEIJÃO**

**ARGEMIRO PEREIRA MARTINS FILHO**

Data da defesa: 27/07/2017

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**MEMBROS TITULARES**

---

Dra. Érika Valente de Medeiros (Orientadora)  
Universidade Federal Rural de Pernambuco - (UFRPE/ UAG)

---

Dr. Antônio Ricardo Santos de Andrade – Examinador Externo  
Universidade Federal Rural de Pernambuco - (UFRPE/ UAG)

---

Dr. Claude Hammecker – Examinador Interno  
Institut de Recherche pour le développement (IRD/França)

*Aos meus pais Argemiro Teixeira Martins e Maria Ini Pereira Martins.  
A minha irmã Almerinda Pereira Martins.  
A minha avó Maria Senira Barros Dutra.  
A minha tia Lucimei Dutra Pereira.  
Aos meus familiares e amigos.*

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ser o pai criador da Terra e tudo que nela existe, e sempre estar com aqueles que buscam seus objetivos e caminhos baseados em seus ensinamentos.

Aos meus pais que são meus exemplos de vida, de dignidade, de esperança, minha base, meu porto seguro. Muita coisa teria sido impossível sem vocês. A minha irmã Almerinda por toda a amizade, companheirismo e por compartilhar bons momentos.

À minha família por todo o apoio, carinho e por entenderem os momentos de ausência.

Aos amigos que a rural me deu, por construírem comigo muitas histórias das quais jamais me esquecerei, “Amigos são a família que nos permitiram escolher”.

Aos amigos e companheiros do laboratório de biotecnologia a qual eu seria incapaz de traduzir em palavras o quanto foram importantes para a finalização deste trabalho.

A minha orientadora e amiga Erika Valente, pela imensurável contribuição no desempenho deste trabalho, pela orientação, pela amizade, pela confiança e pelo incentivo que somou muito para minha formação.

Aos co-orientadores José Romualdo de Sousa Lima e Claude Hammecker, por toda ajuda na elaboração e execução deste trabalho e por toda calma para tirar minhas dúvidas.

Aos colaboradores Gustavo Duda, Keila, Alexandre e Metri, por me receberem na sua equipe e proporcionar todo apoio necessário ao desenvolvimento do trabalho.

A UFRPE, minha casa nos últimos 24 meses, sentirei saudades... ao CNPq e a Facepe pela concessão da bolsa e pelo financiamento do projeto de dissertação.

Ao curso de Pós-Graduação em Produção Agrícola pelo apoio prestado.

A todos os funcionários da UFRPE.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e pelos bons momentos.

Muito Obrigado!

## RESUMO GERAL

A aplicação do biochar na produção de feijão tem sido utilizada com o intuito de potencializar o rendimento desta cultura. No Nordeste, o milho é um dos produtos agrícolas mais importantes, pois participa na formação da renda do agricultor e contribui na alimentação dos animais. O uso de biochar pode trazer benefícios ao solo e ao meio ambiente, como a atuação no sequestro de carbono em longo prazo mitigando os efeitos das alterações climáticas e também apresenta um maior rendimento para a cultura. O objetivo deste estudo é observar os efeitos dos dois tipos de biochar de resíduos de café, em diferentes doses, sobre o crescimento inicial do feijão e do milho e o impacto sobre os atributos químicos, carbono da biomassa microbiana e sobre as atividades enzimáticas absolutas e específicas em um Neossolo Regolítico. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $2 \times 4 + 1$  sendo dois tipos de resíduos borra de café (BC) e casca de café (CC), e 4 doses de cada e mais um controle, sendo EB= dose 0, EBC4, EBC8, EBC12 e EBC16 = biochar de borra de café, nas doses de 4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente; ECC4, ECC8, ECC12 e ECC16 = biochar de casca de café nas doses de 4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>. Todos os tratamentos receberam adubação orgânica, esterco bovino. Aos 45 dias após a semeadura, foram avaliada altura, diâmetro, massa seca da parte aérea, química do solo, carbono orgânico total (COT), carbono da biomassa microbiana (CBM), enzimas absolutas ( $\beta$ -glucosidade, urease, fosfatase ácida e fosfatase alcalina) e específicas. A maioria dos parâmetros avaliados apresentou influência positiva quando adicionado o biochar ao solo nas concentrações elevadas de doses EBC12, EBC16, ECC12 e ECC16. Ao analisar o CBM, os tratamentos EBC16 e ECC12 obtiveram um aumento significativo de 100,01 e 116,28%, respectivamente, em relação ao controle (EB). Percebe-se que o solo que recebeu EBC8, cultivado com milho se destacou consideravelmente em relação à fosfatase com um acréscimo de 216,86% com relação ao controle (EB). A enzima específica tanto pelo carbono da biomassa microbiana como pelo carbono orgânico total apresentaram respostas ao resíduo de café. O biochar produzido a partir de resíduos do café incrementou de forma geral os atributos químico, físicos, microbiano e bioquímicos de solo arenoso cultivado com feijão e milho. Recomenda-se o aproveitamento de resíduos da indústria de café para a produção do biochar e aplicação na cultura do feijoeiro e do milho em doses a partir de 16 Mg ha<sup>-1</sup>.

**Palavras-chave:** Atributos bioquímicos do solo, biocarvão,  $\beta$ -glucosidase, uréase, fosfatases e resíduos.

## ABSTRACT

The application of biochar in bean production has been used to enhance the production of this crop. In the Northeast, maize is one of the most important agricultural products, as it participates in the formation of the income of the farmers and contributes in the feeding of the animals. The use of biochar can bring benefits to the soil and the environment, such as long-term carbon sequestration minimizing the effects of climatic changes, as also presenting a higher yield for the crop. The objective of this study is to observe the effects of the two different types of biochar produced with coffee residues, in different doses, on initial bean and maize growth and the impact on chemical attributes, such as microbial biomass carbon, absolute and enzymatic activities in a Regolithic Neosol cultivated with beans and maize. The experimental design was completely randomized, in a 2x4+1 factorial scheme, being two types of waste coffee grounds (CG), and coffee husks (CH), and 4 doses of each and one control. Being BM= dose 0, and MCG4, MCG8, MCG12 and MCG16 = biochar of coffee grounds, in the doses of 4, 8, 12 and 16, Mg ha<sup>-1</sup>, respectively; MCH4, MCH8, MCH12 and MCH16 = coffee husks in the doses of 4, 8, 12 and 16 Mg ha<sup>-1</sup>. All treatments received organic fertilization, bovine manure. At 45 days after sowing, height, diameter, shoot dry matter, soil chemistry, total organic carbon (SOC), microbial biomass carbon (MBC), and absolute and specific enzymes were verified. Most of the evaluated parameters had a positive influence when adding the biochar to the soil at the higher concentrations of MCG12, MCG16, MCH12 and MCH16 doses. When analyzing the MBC, the treatments MCG16 and MCH12 obtained a significant increase of 100.01 and 116.28%, respectively, when compared to the control (CM). It is noticed that the soil that received MCG8, cultivated with maize, stood out considerably in relation to phosphatase with an increase of 216.86% in relation to the control (CM). The enzymes specific for both the carbon of the microbial biomass and the total organic carbon presented responses to the coffee residue. The biochar produced from coffee residues increased in general the chemical, physical, microbial and biochemical attributes of sandy soil cultivated with beans and maize. It is recommended the use of residues from the coffee industry for the production of biochar and application in the bean and maize crop in doses from 16 Mg ha<sup>-1</sup>.

**Key-words:** biochemical soil attributes, biochar, phosphatases and waste.



## Lista de Figuras

Figura 1: Representação do forno utilizado para produção dos biochars..... 24

Figura 2: Resíduos de casca de café (A), obtida no IPA de Brejão, e de borra de café, obtida numa cafeteria de Garanhuns-PE. .... 24

### Capítulo 1

Figura 1: Efeito de doses elevadas de biochar (4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>) na altura da planta (A), diâmetro da planta (B) e matéria seca da parte aérea (C) de feijão em Entisol. As barras representam barra de erro de quatro repetições. As barras representam erro padrão de quatro repetições. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os biochars dentro de cada dose; letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as doses do biochar EBC e letras maiúsculas em itálico indicam diferenças entre as doses do biochar ECC pela ANAVA seguido do teste de Tukey em  $P \leq 0,05$ ..... 31

Figura 2: Efeito de aumentado das doses de biochar (4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>) sobre carbono orgânico do solo (A) e carbono da biomassa microbiana (B) de entisol tratado com dois resíduos de cafés borra de café (BC) e casca de café (CC), cultivada com feijão. As barras representam erro padrão de quatro repetições. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os biochars dentro de cada dose; letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as doses do biochar EBC e letras maiúsculas em itálico indicam diferenças entre as doses do biochar ECC pela ANAVA seguido do teste de Tukey em  $P \leq 0,05$ ..... 34

Figura 3: Atividades Absolutas A) FDA B) Beta-glucosidase, C) Urease, D) fosfatase ácida e E) fosfatase alcalina de entisol tratados com dois cafés biochars de borra (BC) e casca de café (CC), cultivada com feijão. As barras representam erro padrão de quatro repetições. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os biochars dentro de cada dose; letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as doses do biochar EBC e letras maiúsculas em itálico indicam diferenças entre as doses do biochar ECC pela ANAVA seguido do teste de Tukey em  $P \leq 0,05$ ..... 36

### Capítulo 2

Figura 1: Efeito de doses elevadas de biochar (4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>) na altura da planta (A), diâmetro da planta (B) e matéria seca da parte aérea (C) de milho em Entisol. As barras representam erro padrão de quatro repetições. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os biochars dentro de cada dose; letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as doses do biochar EBC e letras maiúsculas em itálico indicam

diferenças entre as doses do biochar ECC pela ANAVA seguido do teste de Tukey em  $P \leq 0,05$ ..... 51

Figura 2: Efeito de aumentado das doses de biochar (4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>) sobre carbono orgânico do solo (A) e carbono da biomassa microbiana (B) de entisol tratado com dois resíduos de cafés borra de café (BC) e casca de café (CC), cultivada com milho. As barras representam erro padrão de quatro repetições. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os biochars dentro de cada dose; letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as doses do biochar EBC e letras maiúsculas em itálico indicam diferenças entre as doses do biochar ECC pela ANAVA seguido do teste de Tukey em  $P \leq 0,05$ ..... 54

Figura 3: Atividades Absolutas A) FDA B) Beta-glucosidase, C) Urease, D) fosfatase ácida e E) fosfatase alcalina de entisol tratados com dois cafés biochars de borra (BC) e casca de café (CC), cultivada com milho. As barras representam erro padrão de quatro repetições. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os biochars dentro de cada dose; letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as doses do biochar EBC e letras maiúsculas em itálico indicam diferenças entre as doses do biochar ECC pela ANAVA seguido do teste de Tukey em  $P \leq 0,05$ ..... 56

## Lista de Tabelas

### Capítulo 1

Pág.

Tabela 1: Propriedades químico-físicas do biochar de borra de café (BC) e casca de café (CC) e solo..... 28

Tabela 2: Composição química do Neossolo Regolítico após 45 dias da adição de biochar (BC e CC) em cultivo de feijão. .... 33

Tabela 3: Atividades enzimáticas específicas por unidade de carbono orgânico do solo (COT) e por unidade de carbono da biomassa microbiana (CBM) em solo arenoso com biochar cultivado com feijão. .... 38

### Capítulo 2

Tabela 1: Propriedades químico-físicas do biochar de borra de café (BC) e casca de café (CC) e solo..... 48

Tabela 2: Composição química do Neossolo Regolítico após 45 dias da adição de biochar (CC e BC) em cultivo de milho ..... 53

Tabela 3: Atividades enzimáticas específicas por unidade de carbono orgânico do solo (COT) e por unidade de carbono da biomassa microbiana (CBM) em solo arenoso com biochar cultivado com milho. .... 59

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>16</b>
2.1 Cultura do feijão.....	16
2.2 Cultura do milho.....	17
2.3 O biochar .....	18
2.4 Impacto do biochar sobre os atributos químicos e físicos do solo .....	19
2.5 Impacto do biochar sobre os atributos microbianos do solo .....	20
2.6 Impacto do biochar sobre as enzimas.....	21
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>22</b>
3.1 Área de implantação do experimento .....	22
3.2 Obtenção das amostras de solo e do esterco.....	22
3.3 Produção dos biochars.....	23
<b>4. EFEITO DO BIOCHAR DE CAFÉ NA BIOMASSA MICROBIANA E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE UM NEOSSOLO REGOLÍTICO CULTIVADO COM FEIJÃO<sup>1</sup></b> .....	<b>25</b>
Resumo.....	25
4.1 Introdução .....	26
4.2 Material e Métodos.....	28
4.2.1 Produção e caracterização dos biochars .....	28
4.2.2 Instalação do experimento em casa de vegetação .....	28
4.2.3 Análise das plantas .....	29
4.2.4 Análise de solo .....	29
4.2.5 Análise estatística.....	30
4.3 Resultados .....	31
4.3.1 Crescimento de feijão utilizando biochar .....	31
4.3.2 Características químicas do solo após experimento .....	32
4.3.3 Carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana.....	33
4.3.4 Atividades enzimáticas absolutas.....	34
4.3.5 Atividades enzimáticas específicas por unidade de carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana .....	37
4.4 Discussão.....	39
4.4.1 Crescimento de feijão utilizando o biochar.....	39
4.4.2 Características químicas do solo após o experimento .....	40
4.4.3 Carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana .....	40
4.4.4 Atividades enzimáticas absolutas.....	41
4.4.5 Atividades enzimáticas específicas por unidade de carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana .....	44
4.5 Conclusão.....	45

<b>5. BIOMASSA MICROBIANA E ATIVIDADES ENZIMÁTICA DE UM SOLO ARENOSO TRATADO COM BIOCHAR DE CAFÉ, CULTIVADO COM MILHO<sup>2</sup></b> .....	<b>46</b>
Resumo.....	46
5.1 Introdução .....	47
5.2 Material e Métodos.....	48
5.2.1 Produção e caracterização dos biochars .....	48
5.2.2 Instalação do experimento em casa de vegetação .....	48
5.2.3 Variáveis analisadas na planta.....	49
5.2.4 Atributos físicos e químicos do solo e biochar após os 45 dias .....	49
5.2.5 Carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana .....	49
5.2.6 Atividade enzimática absoluta e atividades enzimáticas específicas por unidade COT e CBM .....	50
5.2.7 Análise de dados.....	50
5.3 Resultados .....	50
5.3.1 Crescimento do milho com biochar.....	50
5.3.2 Características químicas do solo após o experimento .....	52
5.3.3 Carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana.....	54
5.3.4 Atividade enzimática absoluta.....	55
5.3.5 Atividade enzimática específica por unidade de carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana. ....	58
5.4 Discussão.....	60
5.4.1 Crescimento de feijão utilizando biochar .....	60
5.4.2 Características químicas do solo após o experimento .....	61
5.4.3 Carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana .....	61
5.4.4 Atividade da enzima absoluta.....	62
5.4.5 Atividades enzimáticas específicas por unidade de carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana. ....	64
5.5 Conclusão.....	65
<b>6 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b>	<b>66</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>67</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa de extrema importância no mundo devido às suas características nutricionais e capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais (DOMINGUES et al., 2013). O feijão é uma das culturas mais importantes do Brasil, ocupando a terceira posição mundial em área plantada, atingindo 9% da área cultivada. (BARROSO et al., 2010). A planta do feijoeiro produz um grão com excelente fonte proteica de carboidratos, vitaminas, minerais, fibras e compostos fenólicos (DALCHIAVON et al., 2010).

A produção mundial de feijão foi em torno de 26,5 milhões de toneladas em 2014. Sendo os principais países produtores: Índia, Brasil, China, EUA, Myanmar e México, que juntos respondem por cerca de 65% da produção mundial (FAO, 2014).

A cultura do milho (*Zea mays* L.) tem grande importância econômica e social, pelo valor nutricional de seus grãos e por seu uso intenso, nas alimentações humana e animal e como matéria-prima para a indústria. O milho é uma das principais *commodities* agrícolas produzidas no mundo, apresentando desempenhos classificados como cíclicos ou sazonais, alternando períodos de crescimento e redução dos preços. Por ser um alimento de baixo custo, pela viabilidade de cultivo tanto em grande quanto em pequena escala e por ser a base de várias cadeias agroindustriais (GALVÃO et al., 2014).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, sendo superado apenas por Estados Unidos e China. Em 2013, o Brasil apresentou uma produção de aproximadamente 80,5 milhões de toneladas e produtividade de 5,25 toneladas ha<sup>-1</sup> (FAO, 2014). Na safra de 2015 a produção de milho foi de 75.876 t sendo 40,1% na 1ª safra e a 2ª de 59,2%, sendo os maiores produtores do Brasil o Rio Grande do Sul e Mato Grosso (IBGE, 2015). O grão é utilizado para fabricação de produtos industriais, tais como amido de milho, e nas indústrias de fermentação e a destilação (RAKSHIT et al., 2010; SOUZA et al., 2012).

De acordo com Oliveira et al. (2013) a produtividade da cultura do milho é estimada aproximadamente de 19.113 kg ha<sup>-1</sup>, onde são considerados como principais fatores responsáveis por essa baixa produção o clima, manejo de nutrientes, fertilidade do solo e práticas culturais. Devido à esses fatores novas técnicas alternativas devem ser desenvolvidas com o intuito de fornecer uma melhor estrutura aos solos pobres em nutrientes, entre essas alternativas o biochar é um produto da degradação térmica de matéria orgânica na ausência de ar (Pirólise), torna-se viável uma vez que apresentam

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão  
grandes vantagens para as estruturas do solo proporcionando uma maior produtividade as culturas agrícolas.

Os estudos com o biochar surgiu a partir da matéria orgânica das Terras Pretas de Índios, em solos amazônicos alterados pela presença humana com excelentes características agrônômicas, apresentando alta fertilidade e alto conteúdo de carbono estável de origem pirogênica em sua fração orgânica, fornecendo um solo adequado ao sequestro de carbono. O conhecimento da sua estrutura e de suas propriedades vem possibilitando a busca por materiais e técnicas que visem através de práticas agrícolas que possam melhorar as estruturas do solo (NOVOTNY et al., 2009).

A aplicação do biochar apresenta um efeito sobre a biomassa e produção de grãos, pois quanto mais tempo o biochar permanece no solo, ocasionará a melhora de sua fertilidade. Além disso, fornecerá um melhor desenvolvimento da planta e maior eficiência no rendimento. A alta concentração de cinzas é um fator relevante sobre o crescimento das plantas, devido sua ligação com K proporcionando a produção de cátions, cálcio e magnésio (BUTNAN et al., 2015)

O biochar é produzido pela queima de matéria orgânica, como madeira e resíduos sob baixas concentrações de oxigênio em um processo conhecido como pirólise e pode ser oxidado por processos bióticos e abióticos, em que grupos funcionais negativamente carregados (carboxílico, fenólicas, hidroxilo, etc.) são formadas nas superfícies de biochar. É um processo que produz um material com uma alta capacidade de troca de cátions, que pode contribuir para a fertilidade do solo (LARA et al., 2013) e apresenta alteração nas propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos (BUTNAN et al., 2015; OLESZCZUK et al., 2014 ).

Segundo Elzobair et al. (2016) o biochar tem o potencial de evitar perdas por evaporação da água do solo e estabilizar determinadas enzimas extracelulares, de modo que a atividade da enzima é mantida depois de proteger contra a degradação. A aplicação de biochar é um método de reposição da qualidade do solo através da melhoria do estado biológico e geralmente é responsável pelo aumento da atividade da enzima (DEMISIE et al., 2014). Atividade enzimática do solo pode ser usada para indicar a intensidade de certos processos bioquímicos, sendo considerado um dos principais contribuintes para a atividade microbiana do solo (BALOTA et al., 2011). As atividades enzimáticas absolutas e específicas são indicadores mais sensíveis que mostra alterações na mudança da qualidade do solo mais rapidamente que outros atributos (MEDEIROS et al., 2015).

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

A biomassa microbiana (BMS) é a fração viva da matéria orgânica, responsável por diversos processos bioquímicos e biológicos e pode funcionar como reserva de nutrientes e catalisador da decomposição da matéria orgânica. Quando essa atividade microbiana é alta ocorre maior decomposição e conseqüentemente, liberação de nutrientes para as plantas, pois também pode significar perdas de C do solo, em longo prazo (SOUZA et al., 2010; PADILHA et al., 2014). O impacto do biochar em propriedades bioquímicas pode ser devido a diferentes alterações químicas como o aumento do pH, carbono orgânico dissolvido, carbono total e nitrogênio no solo que acarreta mudanças na estrutura da comunidade microbiana (PURAKAYASTHA et al., 2015).

Os micro-organismos do solo estão envolvidos em diferentes processos, na decomposição de matéria orgânica, fixação biológica de N, ação antagônica a patógenos, produção de substâncias de crescimento e ciclagem de nutrientes (MELO et al., 2014). A entrada de matéria orgânica no solo institui um ambiente favorável para a atividade microbiana (BALOTA; CHAVES, 2011). De acordo com Mechri *et al.* (2014) as mudanças na biomassa microbiana do solo pode ser atribuído ao fato de que alguns ácidos fenólicos podem ligar-se a uma fonte de carbono adicional, que estimula o crescimento da microbiota do solo.

Os solos da região do experimento apresentam uma pequena expressão de atuação dos processos pedogenéticos, insuficiente para provocar modificações expressivas do material originário, em razão da sua resistência ao intemperismo, característica inerente ao próprio material de origem, pois esses solos apresentam baixo teor de matéria orgânica, fósforo, baixa capacidade de retenção de umidade e baixa fertilidade (SANTOS et al., 2012). No entanto estudos com a utilização de biochar afirmam que melhora a estrutura, fertilidade, atividade enzimática e a biomassa microbiana do solo, tornando possível sua utilização para sanar alguns entraves que acarreta a redução da produtividade agrícola nos tipos de solos classificados como Neossolo Regolítico eutrófico.

O trabalho baseia-se no preenchimento de uma lacuna existente no conhecimento das vantagens de utilização do biochar para a mitigação das alterações do solo e a influência nas estruturas das comunidades microbianas. O diferencial deste trabalho vai estar relacionado com as alterações que pode ocorrer no solo devido à aplicação do biochar em cultivos de milho e feijão. Diante disso, o objetivo deste estudo é avaliar a influência da aplicação das doses do biochar sobre as atividades bioquímica e da microbiológica do solo na cultura do feijão e milho.



## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Cultura do feijão

A origem e/ou domesticação do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) situa-se na Mesoamerica e na região Andina da América do Sul, outro importante centro secundário de origem encontra-se no sul Andes da Argentina do feijoeiro *P. vulgaris*. O feijão amplamente cultivado no centro e no sul da América e da África, pertencente à Família Fabaceae (ou família Leguminosae) (ENVAGELHO et al., 2017) é um dos alimentos mais importantes do mundo, principalmente para pessoas com baixa renda (DEMIATE et al., 2016), representando metade das leguminosas de grãos consideradas fundamental na alimentação humana, pois fornece nutrientes essenciais ao ser humano como proteínas, carboidratos, fibras e minerais, com destaque para o ferro (YAO et al., 2016; BENEVIDES et al., 2013).

O feijão também contém compostos fenólicos e outros fitoquímicos, os compostos fenólicos servem como antioxidantes devido à sua capacidade de inibir a formação de espécies radicais inibem enzimas relacionadas com a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e ânions superóxido, metal quelato, íons como o ferro e o cobre, ou atuam como catadores de radicais doadores de hidrogênio (FAN: BETA, 2017).

O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de feijão, sendo responsável por 13% da produção e consumo diário de 183g per capita (CASTRO et al., 2017; BRIGIDE et al., 2014), constituindo-se o alimento proteico básico da dieta do brasileiro. Para atender essa demanda, o feijão é plantado durante todo o ano, nos mais variados sistemas de cultivo (PEREIRA et al., 2010).

No território brasileiro, o cultivo do feijão predomina nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste, possivelmente em razão de fatores de ordem climática (FREIRE FILHO, 2011). Entretanto, é cultivado durante todo o ano e em todo território. A maior produtividade é obtida nos estados de Goiás e Distrito Federal, representando 17% da produção total nacional de feijão (MINGOTE e NOGUEIRA, 2016).

Deste modo, essa cultura é de extrema importância para a agricultura brasileira, por sua relevância na dieta da população, e por ser o país, um dos maiores produtores e consumidores de feijão do mundo (LOPES et al., 2016).

O feijão deve alcançar uma produção de 3,39 milhões de toneladas em 2017. Distribuídas por safra, a produção de feijão está estimada em 1,39 milhão de toneladas na primeira safra, 1,31 milhão de toneladas na segunda safra e 696,6 mil toneladas na terceira

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão safra. A primeira safra apresenta concentração da área plantada na Bahia, Piauí, Paraná e Minas Gerais, apesar de ser cultivado amplamente no território nacional, na segunda safra, o produtor tem optado por plantio de uma área maior para não concorrer com a soja, e também porque a colheita é realizada em época com menor intensidade de chuvas, o que favorece a qualidade do grão colhido; terceira safra é cultivada sob regime de irrigação no Centro-Sul e coincide com o período chuvoso na Região Norte/Nordeste, desta forma, a área a ser destinada para a cultura do feijoeiro aumentou nos principais estados produtores, influenciado pelos preços de mercado e ao clima favorável (CONAB, 2017a).

## 2.2 Cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta de origem americana e tem consumo em todo o mundo com vários fins, onde, aproximadamente 75% das produções de milho são usadas para alimentar animais e humanos, e 25% são processados em distintos valores agregados aos produtos com rica fonte de amido (62%), proteína (7,8%) e também, uma grande fonte de elementos minerais, tais como Fe, Mn, K, entre outros (ZHENG et al., 2016).

É cultivada em todo o mundo, é líder na produção em grãos no nível global e está aumentando a cada ano. Após a colheita de milho, as borras, os talos, as espigas, as folhas e as sedas de milho (consiste em numerosos compostos químicos tais como esteróides, proteínas, óleos voláteis e polifenóis) podem ser usado na produção de biodiesel ou queimado como fonte de energia (PETROVIC et al., 2016).

Os grãos de milho possuem uma grande variedade de compostos bioativos, como fibra dietética (oligossacarídeos) e polifenóis, esses compostos estão associados à saúde, com potencial antioxidante e anti-inflamatório, com alguns benefícios, como por exemplo, a redução das doenças crônicas não transmissíveis entre elas, sobrepeso, obesidade e doenças cardiovasculares, entre outros (LUZARDO-OCAMPO et al., 2017).

O cultivo do milho no Brasil é realizado em uma ampla diversidade de ambientes. Existem, desde empresários rurais que cultivam extensas áreas e utilizam de todas as tecnologias disponíveis, como também os agricultores familiares que cultivam pequenas áreas e normalmente empregam baixa tecnologia (CAMPOLINA et al., 2008).

Sendo assim, uma das principais culturas produzidas no Brasil e no mundo, representando aproximadamente 21% da nutrição humana (SEAB/DERAL, 2017). No Brasil, a safra de 2016/2017 apresentará um ganho na produção de 41%, alcançando uma produção de 93,8 milhões de toneladas, distribuído entre primeira safra (30,3 milhões de

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão (toneladas) e segunda safra (63,5 milhões de toneladas). As produções do milho juntamente com a soja correspondem a quase 90% do que é produzido no país (CONAB, 2017b).

A produção de grãos tem um papel de destaque no desenvolvimento do Nordeste brasileiro, sendo mais expressivas em áreas de cerrados, situadas no oeste baiano, sul do Maranhão e sudoeste piauiense e de agreste, localizadas nos estados da Bahia e Sergipe, onde predominam sistemas de produção de melhor tecnificação (CARVALHO et al., 2009).

Cerca de três milhões de hectares do Nordeste brasileiro, distribuídos nos ecossistemas dos tabuleiros costeiros, agreste, sertão e cerrados, destinam-se ao cultivo do milho (CARVALHO et al., 2011). Na região Nordeste, no estado de Pernambuco, o milho é uma das culturas mais importantes, faz parte da renda do produtor, principalmente familiar, contribui na alimentação tanto animal quanto humana, pois esse alimento é tradicional e cultural da região.

Desta maneira, o milho assume importância ainda maior na contextualização da agricultura familiar, sendo um dos pilares do cultivo de subsistência e da alimentação das famílias, fortalecendo a economia solidária. Grande parte do insucesso da produção de milho na região nordestina é atribuída a deficiência hídrica, irregularidade bastante acentuada na distribuição de chuvas, à baixa fertilidade dos solos e o manejo inadequado de adubação e aplicação de corretivos (COSTA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2010).

### 2.3 O biochar

O biochar é um material rico em carbono (contém mais de 50% de carbono). É um grão fino e poroso, pode aumentar o rendimento das culturas e reduzir a emissão de gases do efeito estufa ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  e  $\text{N}_2\text{O}$ ), melhorar a qualidade do solo, diminuir a lixiviação de nutrientes, reduz os requisitos de irrigação e fertilizantes, e melhora a saúde microbiana do solo (LI et al., 2017).

É produzido pela decomposição térmica (pirólise) da biomassa (madeira, esterco, folhas entre outros) em condições limitadas de oxigênio a uma temperatura  $<900$  °C. A pirólise é um processo de decomposição de materiais orgânicos sob condições livres de oxigênio na faixa de temperatura, 300-900 ° C e durante a decomposição térmica, a celulose, a hemicelulose e a lignina que compõem a biomassa passam por suas próprias vias de reação, incluindo despolimerização e fragmentação à sua própria temperatura, formando produtos sólidos, líquidos e gasosos que são referidos como carvão. Atualmente,

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

já existem fornos adaptados que reaproveitam parte desses gases para retroalimentar a queima, com isso diminuído essas emissões. Os rendimentos dos produtos de pirólise dependem das características dos materiais de biomassa bruta e dos processos de pirólise (CHA et al., 2016).

Os resíduos agrícolas tal como casca de madeira, esterco de lácteos, rejeitos de beterraba, pinheiro, casca de arroz, milho, cascas de amendoim, casca de azeitona, chá e plantas de tomate são considerados como matérias-primas para produção do biochar. Em diferentes condições de pirólise este biocarvão produzido com maior temperatura apresenta menor teor de matéria volátil e maior rendimento de cinzas (LI et al., 2017; LLORACH-MASSANA et al., 2017).

Os efeitos dos biochars sobre o crescimento das culturas ainda parecem imprevisíveis, em alguns casos aumentam enquanto outras diminuem. As respostas ao rendimento estão ligadas às propriedades do biochar que é amplamente variável bem como as propriedades do solo e requisitos ambientais da planta (LEHMANN et al., 2015). Atualmente a utilização do biochar está crescendo, sendo utilizado em diversas culturas leguminosas, frutíferas e grãos, entre outras e são igualmente importantes para entender a influência do biochar na variação no crescimento das plantas (UPADHYAY et al., 2014).

#### 2.4 Impacto do biochar sobre os atributos químicos e físicos do solo

A aplicação do biochar sobre diferentes tipos de solo alteram as propriedades físicas e químicas tais como, capacidade de troca de cátions, absorção de nutrientes, capacidade de retenção de água do solo e evita a acidificação do solo. Desta forma, torna-se importante compreender o efeito direto e indireto do biochar, assim como, propriedades microbianas do solo, pois essas propriedades do solo são muitas vezes consideradas poderosos indicadores sensíveis de funcionamento e qualidade do solo (KHADEMA; RAIESI, 2017).

A capacidade de retenção de nutrientes dos solos reduzirá o uso de fertilizantes minerais em longo prazo. Além disso, a estrutura altamente porosa e grande área de superfície de biochar fornecem refúgio para micro-organismos benéficos do solo, como micorrizas e bactéria, isso pode ter efeito positivo nos processos microbianos envolvidos no ciclo de nutrientes e decomposição de matéria orgânica (HE et al., 2017).

O biocarvão tem potencial para fornecer nitrogênio (N), fósforo (P) e suplemento de carbono orgânico ao solo. É também considerado como um condicionador do solo,

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão capaz de reduzir a densidade, aumentar a aeração do solo, tendo múltiplos benefícios para melhorar a degradação do solo e aumentar rendimentos das colheitas (WANG et al., 2017).

O fertilizante nitrogenado (N), especialmente a ureia, é um dos fatores nutritivos mais importantes para a produtividade das culturas e a qualidade dos grãos. Altas taxas de adubo nitrogenado são frequentemente aplicadas, levando a uma baixa eficiência do uso de fertilizantes e a graves problemas ambientais. Entretanto, a combinação de biochar e fertilizante N é eficiente para melhorar o rendimento das culturas, reduzindo a taxa de aplicação de N (WANG et al., 2015).

Ao adicionar biochar, o solo torna-se mais capaz de reter a umidade e melhorar sua qualidade em termos de várias fontes de carbono e energia, bem como, a nutrição mineral para o desenvolvimento e reprodução de micro-organismo, pois além do carbono, o biochar é composto de oxigênio, nitrogênio e outros elementos. Desta maneira, otimiza a conversão e os processos bioquímicos do solo, aumentando a absorção de nutrientes pelas plantas, o que pode promover o crescimento das culturas (TAN et al., 2017).

A melhoria do solo com o uso de biochar pode ser observada também pelos potenciais benefícios, incluindo o aumento da capacidade de troca catiônica (CTC) e a redução da lixiviação de nitrogênio e outros nutrientes nas águas subterrâneas. Devido às suas propriedades químicas e físicas, o biochar pode ser usado como uma alternativa para alteração do solo visando melhorar a produtividade das culturas pelo aumento da fertilidade do solo (HUNG et al., 2017).

## 2.5 Impacto do biochar sobre os atributos microbianos do solo

A melhoria nas condições do solo provenientes do uso do biochar está associada a qualidade da matéria prima, como ele é preparado e o retorno do mesmo ao solo (TAN et al., 2017). O estudo dos efeitos do biochar sobre as propriedades microbianas do solo é de fundamental importância, uma vez que essa é uma variável sensível as mudanças do meio e é indicadora da qualidade do solo (KHADEM ; RAIESI , 2017).

Inicialmente, quando resíduo não está incorporado ao solo, possui pouco potencial biológico. No entanto, após ser condicionado ao solo, por algum tempo, esse potencial biológico é adquirido. Quando adicionado ao solo, a estrutura porosa do biochar pode oferecer microsítios favoráveis ao abrigo de micro-organismos, contra predadores da fauna do solo (JONES et al., 2012). Essa estrutura porosa possui alta superfície interna com a habilidade de adsorver matéria orgânica solúvel, gases e nutrientes inorgânicos, tornando-o

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão um habitat sustentável para colonização, crescimento e reprodução, particularmente para bactérias, actinomicetos e fungos micorrízicos arbusculares (THIES; RILLIG, 2009).

As relações de diversidade microbiana nos solos com biochar também foram pouco abordados, porém estudos tem mostrado que ambas as técnicas tradicionais de isolamento de micro-organismos do solo, como também técnicas moleculares independentes de cultivo, que possibilitam o melhor acesso a diversidade microbiana no solo. (CHEN et al., 2013; NAVARRETE et al., 2010). Estudos avaliando o biochar verificaram que o crescimento de fungo para bactéria foi de 30 %. Pois maiores conhecimentos sobre a relação desses micro-organismos no solo podem ajudar a indicar o melhor manejo de uso do biochar no solo (JONES et al.,2012).

O biochar pode possuir potencial de poder de neutralização da acidez do solo, tornando meio propício para os micro-organismos e também favorece o aumento nas adições de carbono orgânico melhora a retenção de nutrientes que se tornam acessíveis aos micro-organismos na superfície da partícula (LEHMANN et al., 2011; VAN ZWIETEN et al., 2010).

## 2.6 Impacto do biochar sobre as enzimas

As atividades enzimáticas são sensíveis ao pH e tipicamente mudam com a dinâmica de nutrientes, de modo que a quantificação dessas proteínas pode promover a compreensão do impacto do biochar na função microbiana e na fertilidade geral do solo. As interações do biocarvão com as enzimas respondem a química do solo e uma vez que o substrato não estiver com o pH ideal para a enzima, pode impactar as atividades enzimáticas que funcionam dentro de limites de pH. O efeito do pH depende da composição química do resíduo, que também pode influenciar os nutrientes do solo (FOSTER et al.,2016).

O biochar contém um pequeno componente lábil que pode fornecer nutrientes prontamente disponíveis para micróbios do solo e estimular a atividade enzimática (SPOKAS et al., 2012).

Biochar tem um poder de aumentar os estoques de matéria orgânica e estimular a atividade microbiana do solo, logo os micro-organismos são responsáveis pela decomposição da matéria orgânica através de uma variedade de enzimas. A aplicação deste substrato é um método que está sendo muito utilizado para melhorar a qualidade e o estado

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão biológico do solo, o que geralmente implica um aumento na atividade enzimática (GASCÓ et al., 2016).

As atividades enzimáticas são um bom indicador da qualidade do solo, porque são sensíveis a qualquer alteração nas propriedades do solo. As enzimas no solo são geralmente isoladas por um micro-organismo, raízes de plantas e de células como resultado da morte celular. A degradação, transformação e mineralização da matéria orgânica e nutrientes do solo são mediadas pelas enzimas do solo. As atividades enzimáticas como a  $\beta$ -glucosidase, fosfatase e urease, podem ser consideradas como um indicador de qualquer perturbação no solo e desempenham um papel importante na transformação de carbono e outros nutrientes. (JAIN et al., 2016).

O biochar tem efeitos variáveis em diferentes solos, por isso, as enzimas são catalisadores que desempenham um papel importante na modulação das respostas dos ecossistemas às mudanças no abiótico (no estado nutricional do solo ou na qualidade da matéria orgânica do solo) e condições bióticas (WANG et al., 2015).

Portanto, a utilização e estudo sobre a influência do biochar nas culturas e seu desempenho no solo são de extrema importância para agricultura sustentável onde objetiva-se alta produtividade agregando o mínimo possível o meio ambiente.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Área de implantação do experimento**

O experimento foi realizado em vasos na casa de vegetação localizada na área experimental da Unidade Acadêmica de Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UAG/UFRPE) no município de Garanhuns, PE Brasil, cujas coordenadas geográficas são: 08°53'25" de latitude S e 36°29'34" de longitude O, com altitude média de 896 m. O clima predominante é o Mesotérmico Tropical de Altitude (Cs'a), de acordo com a classificação climática de Köppen (MELO e ALMEIDA, 2013), temperatura e precipitação média anual é de 20°C e 1.300 mm respectivamente.

#### **3.2 Obtenção das amostras de solo e do esterco**

O solo foi coletado na mesorregião do Agreste Meridional do Estado de Pernambuco no município de São João, nas coordenadas geográficas Latitude 8° 52' 30" S e Longitude 36° 22' 00" O, com altitude de 705 m. O solo da área é classificado como

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

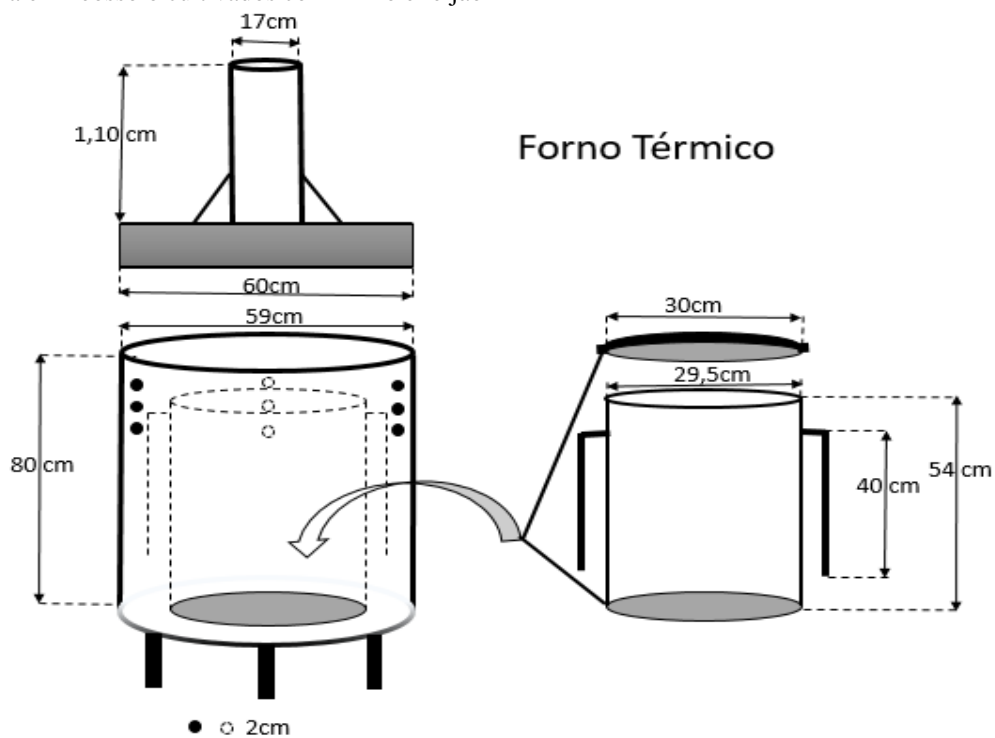
Neossolo Regolítico eutrófico típico apresentando uma textura arenosa (SILVA et al., 2014). A coleta do solo para os preenchimento dos vasos foi realizada em uma área não antropizada de 0- 20 cm de profundidade, e posteriormente para a realização da análise química do solo e do biochar.

O esterco bovino foi obtido da Clínica de Bovinos da UFRPE, localizada na Unidade Acadêmica de Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UAG/UFRPE) no município de Garanhuns, PE Brasil.

### 3.3 Produção dos biochars

Os biochars foram produzidos por meio de pirólise lenta, num pequeno forno térmico caseiro (Figura 1), o qual foi baseado num modelo amplamente utilizado pelos agricultores tailandeses (PRAKONGKEP et al., 2015). Foram utilizados dois diferentes tipos de biomassa para a produção dos biochars: casca de café (CC) (Figura 2A) e borra de café (BC) (Figura 2B). A escolha desses resíduos se deu pela alta disponibilidade na região e no Brasil. Os biochars foram produzidos por meio do processo de combustão incompleta dos resíduos, colocando-se os mesmos (CC e BC) no cilindro interno (com 54 cm de altura e diâmetro de 29,5 cm), o qual depois foi fechado. Após isso, o segundo cilindro (com altura de 80 cm e diâmetro de 59 cm), foi preenchido com madeira, a qual tem por objetivo a geração de calor no forno térmico.





**Figura 1:** Representação do forno utilizado para produção dos biochars



**Figura 2:** Resíduos de casca de café (A), obtida no IPA de Brejão, e de borra de café, obtida numa cafeteria de Garanhuns-PE.

#### 4. EFEITO DO BIOCHAR DE CAFÉ NA BIOMASSA MICROBIANA E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE UM NEOSSOLO REGOLÍTICO CULTIVADO COM FEIJÃO<sup>1</sup>

##### Resumo

A aplicação do biochar na produção de feijão tem sido utilizada com o intuito de potencializar o rendimento desta cultura. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de dois tipos de biochar de resíduos de café sobre o crescimento inicial do feijão e o impacto sobre os atributos químicos, carbono da biomassa microbiana e sobre as atividades enzimáticas absolutas e específicas em um Neossolo Regolítico cultivado com feijão (variedade BRS estilo). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, distribuído em esquema fatorial  $2 \times 4 + 1$  sendo dois tipos de resíduos borra de café (BC) e casca de café (CC), e 4 doses cada e mais um controle, sendo EB= dose 0, EBC4, EBC8, EBC12 e EBC16= biochar de borra de café, nas doses de 4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente; ECC4, ECC8, ECC12 e ECC16= biochar de casca de café nas doses de 4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>. Todos os tratamentos receberam adubação orgânica. Aos 45 dias após a semeadura, foram avaliados altura, diâmetro, massa seca da parte aérea das plantas de feijão; do solo foram avaliados: análises químicas de rotina, carbono orgânico total, carbono da biomassa microbiana, atividades enzimática absolutas e específicas. A maioria dos parâmetros avaliados apresentou influência positiva quando adicionado o biochar ao solo nas concentrações elevadas de doses EBC12, EBC16, ECC12 e ECC16. O biochar produzido a partir de resíduos do café incrementou de forma geral os atributos químicos, físicos, microbiano e bioquímicos de solo arenoso cultivado com feijão. Recomenda-se o aproveitamento de resíduos da indústria de café para a produção do biochar e aplicação na cultura do feijoeiro em doses a partir de 16 Mg ha<sup>-1</sup>.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris*, biocarvão, beta-glucosidase, carbono orgânico, resíduo.

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

#### 4.1 Introdução

Biochar é um material sólido estável conhecido também como terra escura amazônica ou terra preta de Índio (SAXENA et al., 2013), obtido pela pirólise que é a queima de diferentes tipos de biomassa em condições limitadas de oxigênio. O produto desta carbonização contém teor de carbono variando de 70% - 80%, e suas propriedades dependem das matérias-primas e das condições de conversão termoquímica (ZHANG et al., 2013).

Quando aplicado ao solo, o biochar pode interferir nas propriedades físicas e químicas, reduzir as emissões de gases de efeito estufa ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  e  $\text{N}_2\text{O}$ ) e melhorar a microbiota do solo. No entanto, a variabilidade de tipos de biochar e o efeito que estes podem causar em propriedades de diferentes tipos de solo (NOVAK et al., 2014), tem estimulado os pesquisadores à estudarem biochar produzidos a partir de resíduos industriais para diminuir efeitos causados pelo descarte inadequado desses resíduos e fornecer uma destinação segura para o seu uso na agricultura.

Neste sentido, a cultura do café tem grande importância no mundo, sendo uma das principais commodities, com uma produção mundial de cerca de 4.868,131 toneladas (FAOSTAT, 2014). Os resíduos gerados por essa cultura podem se tornar um problema para o ambiente caso não tenha uma destinação eficiente. Com a produção de biochar a partir dos resíduos da indústria de produção e consumo de café, este material poderá encontrar um novo destino para uso na agricultura. Este substrato pode ser aproveitado sendo uma opção de baixo custo, além de auxiliar na redução do acúmulo no ambiente (ASSIS et al., 2011; MENEGHELLI et al., 2016).

Diversos benefícios vêm sendo descobertos pela aplicação do biochar em solos, como o aumento da eficiência na retenção de água e fontes de carbono, o estímulo aos processos de conversão bioquímica e à fertilidade do solo, absorção de nutrientes pelas plantas, promovendo o crescimento e a produção das culturas (TAN et al., 2017).

A aplicação do biochar na produção de feijão tem sido utilizada com o intuito de potencializar o rendimento desta cultura. Autores afirmam que diferentes biomassas utilizadas na produção do biochar, conferem a este semelhante potencial para estimular o crescimento das plantas proporcionando um aumento na produtividade da cultura (BAUM E WEITNER, 2006; CHAN et al., 2008; GALINATO et al., 2011; SAXENA et al., 2013).

Entretanto existe uma lacuna a respeito dos benefícios que o biochar obtido de resíduos da indústria de café pode proporcionar ao solo cultivado com feijão e sobre os

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão atributos microbianos e bioquímicos do solo. Esses parâmetros são importantes porque são os atributos mais sensíveis do solo (MEDEIROS et al., 2015) e que podem fornecer respostas mais rápidas ao impacto que o biochar causa na qualidade dos solos.

As comunidades microbianas fornecem funções importantes nos ecossistemas atuando como principais reguladores de processos bioquímicos do solo. No entanto, os efeitos do biochar nos micróbios são importantes no benefício da aplicação do substrato ao solo (HUANG et al., 2017). A biomassa microbiana (BMS) é a fração viva da matéria orgânica, responsável por diversos processos bioquímicos e biológicos e pode funcionar como reserva de nutrientes e catalisador da decomposição da matéria orgânica. Quando essa atividade microbiana é alta ocorre maior decomposição e conseqüentemente, liberação de nutrientes para as plantas, pois também pode significar perdas de C do solo, em longo prazo (SOUZA et al., 2010; PADILHA et al., 2014).

O tamanho da biomassa determina, direta ou indiretamente, a produção de enzimas e, qualquer alteração na comunidade microbiana do solo pode prejudicar as enzimas (ZHU et al., 2017; RAIESI; BEHESHTI, 2014). As atividades enzimáticas do solo são importantes indicadores de processos bioquímicos, porque estão frequentemente envolvidos na decomposição e síntese de MOS, ciclagem, disponibilidade de nutrientes e também são utilizadas como indicadores de fertilidade e qualidade do solo. Em particular, as atividades enzimáticas estão diretamente relacionadas à funcionalidade do solo ou dos sedimentos e podem ser amplamente utilizadas para avaliar a atividade microbiana, devido à sua resposta às mudanças ocorridas no solo (DURENKAMP et al., 2016; RAIESI; BEHESHTI, 2014).

A atividade enzimática, a atividade e composição microbiana do solo são frequentemente afetados pela composição da vegetação, práticas de manejo, pH do solo, teor de matéria orgânica do solo, umidade e temperatura do solo (HUANG et al., 2017; RAIESI; BEHESHTI, 2014).

Estudos sobre o impacto que diferentes tipos de biochar apresentam sobre a produção de cultivos e atributos do solo são bem documentados (FARHANGI-ABRIZ; TORABIAN, 2017; FOSTER et al., 2016; MONDAL et al., 2016). Entretanto, estudos com o reaproveitamento de resíduos da indústria e consumo de café, visando à produção de biochar ainda são escassos e é necessário ser avaliados visando uma nova destinação e uso na agricultura, bem como o aumento da produção de feijão e melhoria da qualidade de solo arenoso com baixa fertilidade. Por isso, determinar os atributos da planta e do solo é crucial para o entendimento da eficiência do uso do biochar. E para determinar se os dois

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

tipos de biochar produzidos pela casca e borra de café possuem o mesmo padrão de comportamento quando aplicados à Neossolo Regolítico cultivado com feijão. Relatamos os efeitos dos dois tipos de biochar, em diferentes doses, sobre o crescimento inicial do feijão e o impacto sobre os atributos químicos, carbono orgânico e da biomassa microbiana e sobre as atividades enzimáticas absoluta e específica em um Neossolo Regolítico cultivado com feijão (variedade BRS estilo).

## 4.2 Material e Métodos

### 4.2.1 Produção e caracterização dos biochars

Os dois biochars foram produzidos por meio de pirólise lenta, num pequeno forno térmico, o qual foi baseado num modelo amplamente utilizado pelos agricultores tailandeses (PRAKONGKEP et al., 2015). Foram utilizados dois diferentes tipos de biomassa para a produção dos biochars: casca de café (CC) e borra de café (BC). A escolha desses resíduos se deu pela alta disponibilidade na região e no Brasil.

Dos dois biochars foram determinados pH, teores de P, C, N, Mg, Ca, K, Al e H+Al, conforme (EMBRAPA, 2009) (Tabela 1).

### 4.2.2 Instalação do experimento em casa de vegetação

O experimento foi realizado em vasos em condições controladas de casa de vegetação. O solo utilizado foi coletado em uma camada de 0-20 cm de profundidade em uma floresta tropical seca em região semiárida do Brasil (8° 52' 30'' S; 36° 22' 00'' O, com altitude de 705 m), classificado como Neossolo Regolítico eutrófico típico (SANTOS et al., 2012) e caracterizado conforme EMBRAPA (2009) (Tabela 1).

**Tabela 1:** Propriedades químico-físicas do biochar de borra de café (BC) e casca de café (CC) e solo.

	pH	P	Ca	Mg	K	Al	Na	SB	CTC	C	N	C/N	ASE
	1:5 1:2,5	mg kg <sup>-1</sup>	-----cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> -----				-----%-----			m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup>			
CC	10,31	470,65	0,14	0,12	22,17	0,00	0,06	22,49	22,54	67,11	2,05	32,7	244,0
BC	9,65	311,46	1,56	0,72	2,68	0,00	0,50	5,5	5,56	68,81	4,30	16,0	23,5
Solo	5,1	16,6	0,8	0,8	0,15	0,15	0,28	2,8	3,98	1,68	0,24	6,7	-----

SB= Somas de bases, CTC = capacidade de troca de cátions, C= carbono, N= nitrogênio, C/N= relação carbono/nitrogênio e ASE= área superficial específica.

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), distribuído em esquema fatorial  $2 \times 4 + 1$  sendo dois tipos de resíduos borra de café (BC) e casca de café(CC), 4 doses cada e mais um controle, sendo EB= dose 0 (controle), EBC4, EBC8, EBC12 e EBC16= biochar de borra de café, nas doses de 4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente; ECC4, ECC8, ECC12 e ECC16= biochar de casca de café nas doses de 4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>. Todos os tratamentos receberam adubação orgânica.

Plantou-se quatro sementes de feijão (variedade BRS estilo) e uma semana após a emergência foi feito o desbaste, deixando-se uma planta por vaso. Os vasos foram irrigados a cada dois dias com água destilada, deixando-se o solo sempre na capacidade de campo, por meio de pesagens. Aos 45 dias após a semeadura, as plantas de feijão foram avaliadas e procedeu-se a coleta de solos para avaliação das atividades microbianas e bioquímicas. Foram retiradas 10 amostras equidistantes em cada vaso, realizada a mistura, peneirado em uma malha de 2 mm.

#### 4.2.3 Análise das plantas

As alturas das plantas de feijão foram estimadas pela medição em centímetro do colo da planta até o ápice caulinar de cada pote. Os diâmetros das plantas foram medidos com o paquímetro e as medidas foram tomadas logo abaixo das folhas cotiledonares. As folhas, as hastes e os frutos foram secos em estufa com circulação forçada de ar a 65 °C até obter peso constante, quando, então, foi quantificada a massa de matéria seca da planta (DEMONTE et al., 2016; GONZALES et al., 2014).

#### 4.2.4 Análise de solo

Os seguintes atributos químicos foram determinados: pH em água (1: 2,5), P disponível, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> (EMBRAPA, 2009). Os Na<sup>+</sup>, P e K<sup>+</sup> foram extraídos usando Mehlich-I, e K<sup>+</sup> foi quantificado através do método colorimétrico. O P inorgânico extraível foi quantificado usando o método de colorimetria. Com base em bases de bases (V), uma saturação por alumínio e capacidade de troca catiônica (Tabela 2).

O carbono orgânico total (COT) foi realizado segundo a metodologia de Yeomans e Bremner (1988).

Na determinação do carbono da biomassa microbiana (CBM) as amostras foram submetidas ao processo de irradiação conforme a metodologia descrita por Mendonça e Matos (2005). A extração da biomassa foi realizada de acordo com Vance et al. (1987) e

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão  
Tate et al. (1988) utilizando-se como extrator  $K_2SO_4$  a 0,5 M. O CBM foi determinado por colorimetria (BARTLETT e ROSS, 1988).

Foram avaliadas as atividades enzimáticas:  $\beta$ -glucosidase (BETAGLU) (3.2.1.21), Urease (URE) (EC 3.5.1.5), Fosfatase ácida e alcalina (Pac e Palk) (EC 3.1.3), e a estimativa da atividade microbiana que realizada pelo método de hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) (CHEN et al., 1988). As determinações das atividades enzimáticas foram baseadas em análise colorimétrica dos produtos de libertação por cada enzima quando a amostra de solo foi submetida a condições normais de incubação com substrato adequado (Sigma Aldrich).

A atividade  $\beta$ -glucosidase (ciclo do C), Fosfatase (ciclo do P), e Urease (ciclo do N), foram determinadas segundo a metodologia proposta por Eivazi e Tabatabai (1988), Eivazi e Tabatabai (1977), e Kandeler e Gerber (1988) respectivamente. As atividades enzimáticas foram expressas em microgramas de produto produzido por grama de solo e por tempo específico.

Cada atividade enzimática absoluta foi dividida por COT (ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2003) para determinar as atividades de enzimas específicas por unidade COT. Os dados de todas as atividades enzimáticas foram divididos pelo CBM para definir as atividades enzimáticas específicas por unidade de CBM, de acordo com Raiesi e Beheshti (2014).

#### 4.2.5 Análise estatística

Os dados foram analisados estatisticamente usando ANAVA para investigar o significado das diferenças de efeitos biochars sobre o crescimento da cultura e atributos do solo. As diferenças significativas foram comparadas usando o teste de Tukey com uma probabilidade de 5%. Com as doses dos biochars foram selecionadas curvas de regressão para avaliar o ponto máximo de cada variável e a dose mais eficiente.

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

### 4.3 Resultados

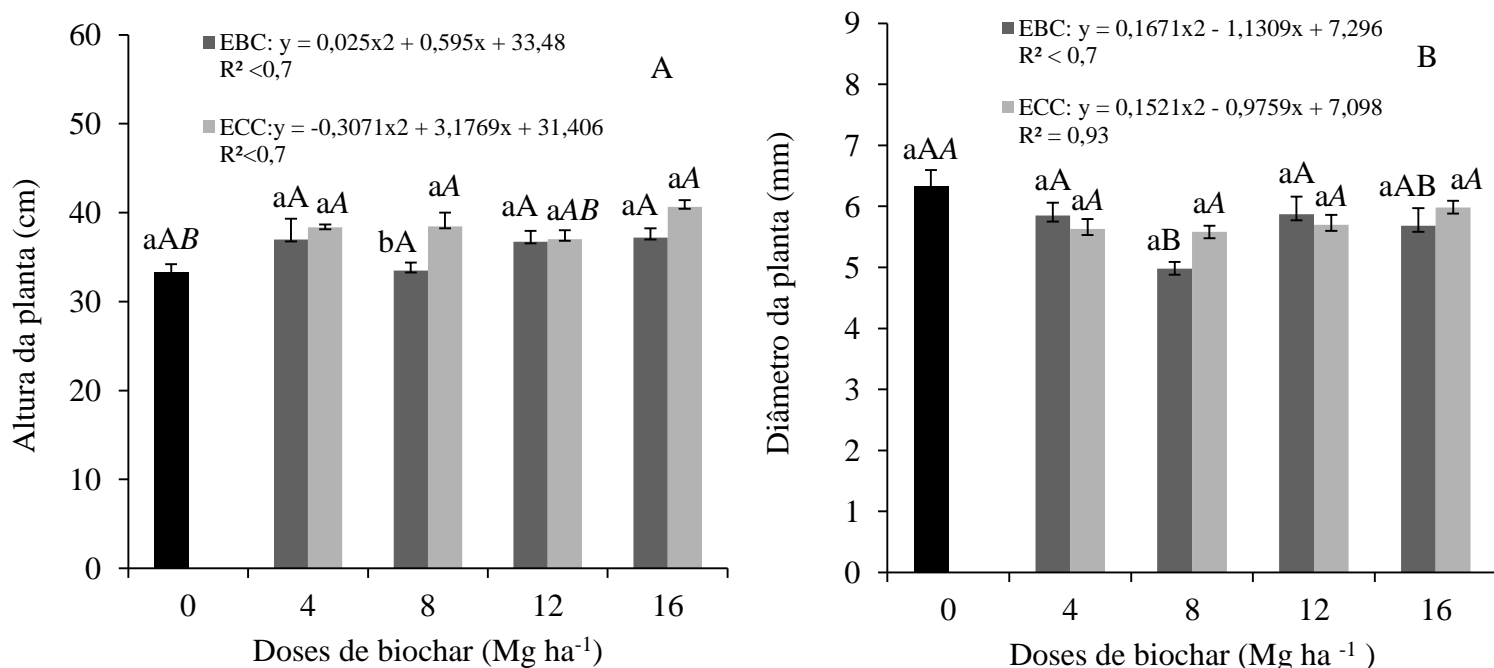
#### 4.3.1 Crescimento de feijão utilizando biochar

O biochar que apresentou melhor resposta para a altura da planta foi o de casca de café na dose 8 Mg ha<sup>-1</sup> demonstrando diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) em relação a borra de café (Figura 1A).

A aplicação do biochar ao solo não induziu diferenças entre os biochars, verificou-se diferença significativa apenas na dose 8 Mg há<sup>-1</sup> para a variável diâmetro da planta em ambos os biochars (BC e CC) (Figura 1B).

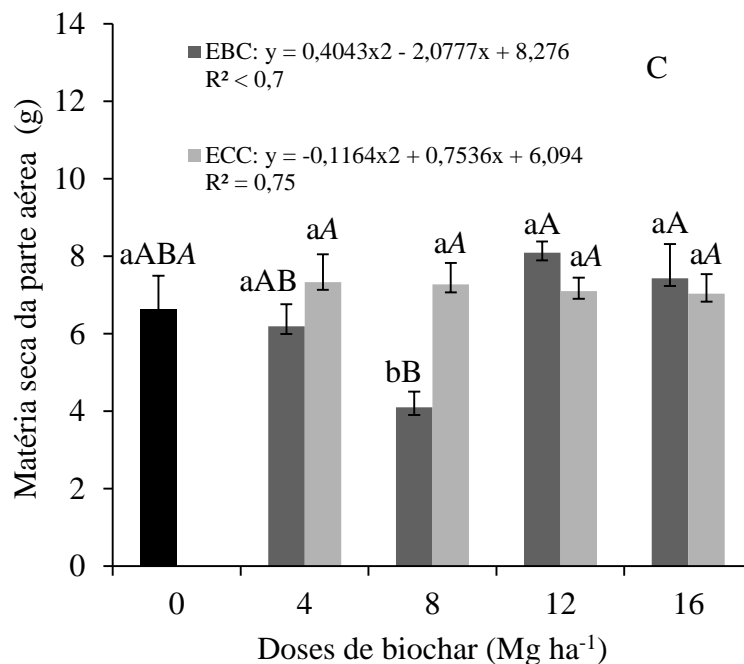
O uso do biochar (BC e CC) apresentou aumento significativo para a massa seca da parte aérea na dose 8 Mg ha<sup>-1</sup> para as médias avaliadas sendo o biochar de casca de café (CC) que desempenhou melhores resultados (Figura 1C).

Quando avaliada a matéria seca da parte aérea, as curvas de regressões apresentaram comportamento similar às da altura e diâmetro de plantas, sendo selecionadas curvas polinomiais do segundo grau.



<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação





**Figura 1:** Efeito de doses elevadas de biochar (4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>) na altura da planta (A), diâmetro da planta (B) e matéria seca da parte aérea (C) de feijão em Entisol. As barras representam erro padrão de quatro repetições. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os biochars dentro de cada dose; letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as doses do biochar EBC e letras maiúsculas em itálico indicam diferenças entre as doses do biochar ECC pela ANAVA seguido do teste de Tukey em  $P \leq 0,05$ .

#### 4.3.2 Características químicas do solo após experimento

O biochar de resíduo de café interferiu positivamente nas características químicas do solo, onde observa-se um aumento significativo na dose 16 Mg ha<sup>-1</sup> para o resíduo de casca de café nas variáveis pH, P, e K. Já para o Al, Na e H+Al, apresentando diferença significativa nas médias avaliadas. Para o biocarvão da borra de café apresentou diferença significativa nas doses 4 Mg ha<sup>-1</sup>, 12 Mg ha<sup>-1</sup>, 16 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. No entanto, para a soma de bases (SB) e saturação por base (V%) e capacidade de troca de cátions (CTC), observou-se diferença significativa para os dois resíduos nas doses elevadas de 12 Mg ha<sup>-1</sup> e 16 Mg ha<sup>-1</sup>. Mas para o Mg e Ca não houve interferência dos resíduos adicionados ao solo. (Tabela 2).

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

**Tabela 2:** Composição química do Neossolo Regolítico após 45 dias da adição de biochar (BC e CC) em cultivo de feijão.

TRAT.	pH	P	Mg	Ca	K	Al	Na	H+Al	SB	CTC	V%
	1:2,5	mg kg <sup>-1</sup>	-----cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> -----								
EB	5,3 aBC	6,0 aCD	1,02 aAA	0,66 aAA	0,15 aDE	0,24 aABA	0,09 aCB	3,75 aABA	1,83aAB	5,83 aAA	31,5 aBC
EBC4	5,4 bB	8,6 aB	1,07 aA	0,65 aA	0,20bCD	0,31 aA	0,16 aAB	3,96 aA	1,92 aA	6,19 aA	31,0 aA
EBC8	5,5 bB	8,5 aB	1,04 aA	0,65 aA	0,29 bBC	0,20 aB	0,14 aBC	3,55 aA	1,98 aA	5,73 aA	34,8 aA
EBC12	5,7 aA	9,4 aAB	1,05 aA	0,67 aA	0,34 bAB	0,15 aB	0,16 aAB	3,88 aA	2,05aA	6,08 aA	33,8 bA
EBC16	5,8 bA	10,9 bA	1,04 aA	0,64 aA	0,40 bA	0,15 aB	0,19 aA	3,82 aA	2,07bA	6,05 aA	34,3bA
ECC4	5,6aBC	8,0 aC	0,99 aA	0,66 aA	0,30aD	0,15 bAB	0,09 bB	3,92 aA	1,95 aB	6,02 aA	32,4 aC
ECC8	5,9 aAB	8,9 aBC	0,97 aA	0,72 aA	0,42 aC	0,15 aAB	0,17 aB	3,59 aAB	2,11 aB	5,85 aA	36,0aBC
ECC12	6,1 aAB	10,1aB	0,98 aA	0,68aA	0,63 aB	0,14 aAB	0,16 aA	3,26 bB	2,28 aB	5,68 bA	40,2 aAB
ECC16	6,4 aA	11,9 aA	1,05 aA	0,75 aA	0,79 aA	0,13 aB	0,17 aA	3,42 bB	2,59 aA	6,14 aA	42,3 aA
CV%	2,14	8,09	8,06	4,36	13,67	28,04	17,49	7,49	12,46	4,63	6,44

As médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. SB Somas de bases, CTC capacidade de troca de cátions, V saturação por bases onde letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as doses do biochar EBC e letras maiúsculas em itálico indicam diferenças entre as doses do biochar ECC pela ANAVA seguido do teste de Tukey em  $P \leq 0,05$ .

#### 4.3.3 Carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana

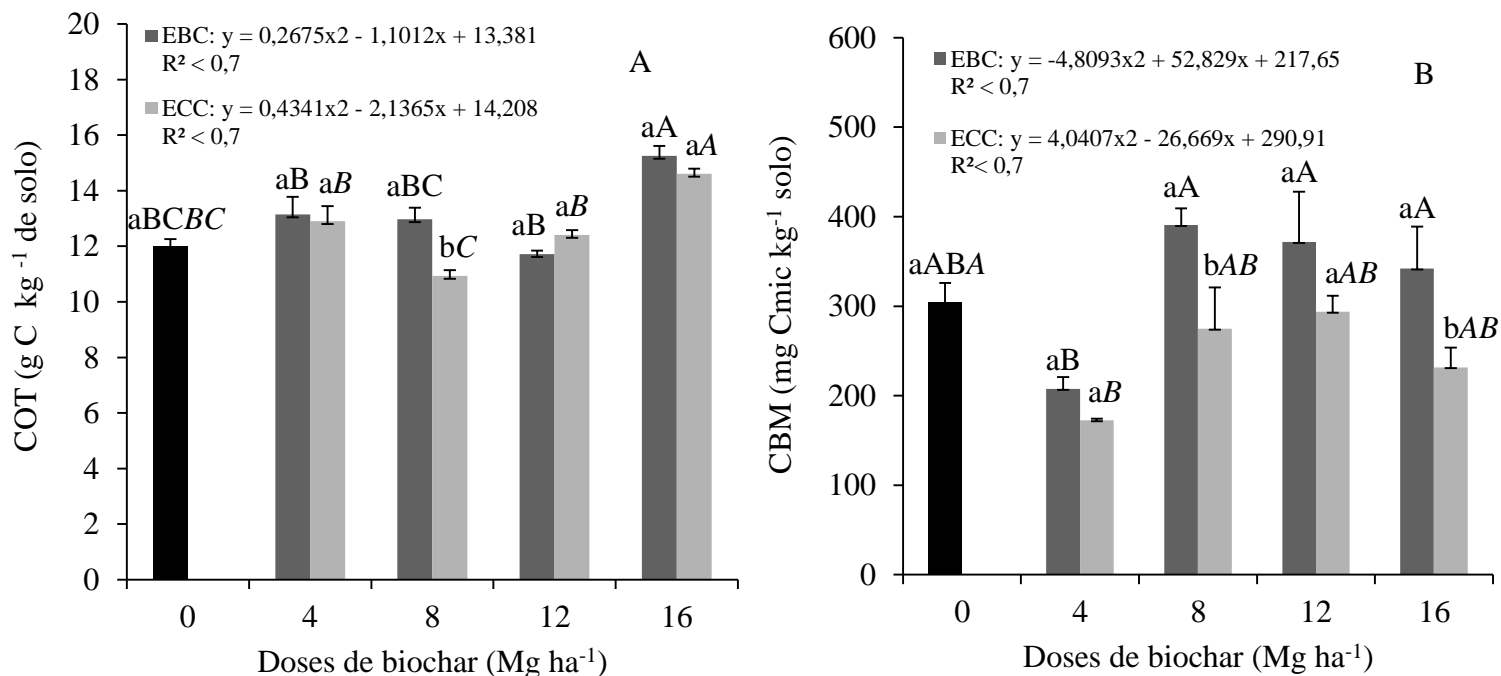
Maiores doses dos biochars (BC e CC) aplicados ao solo permitiram uma maior quantidade de COT, mas não apresentando diferença significativa entre eles. Já para as doses, foram observadas houve diferença significativa na dose 8 Mg ha<sup>-1</sup>, sendo mais expressivo na borra de café para o carbono orgânico total (COT) (Figura 2A).

A aplicação do biochar ao solo apresentou diferença significativa na dose 8 Mg ha<sup>-1</sup> e 16 Mg ha<sup>-1</sup> com o biochar de borra de café para carbono da biomassa microbiana (CBM). O biochar borra de café foi o mais eficiente em aumentar o CBM nas maiores doses (Figura 2B).

Curvas polinomiais de segundo grau explicaram o comportamento do carbono orgânico total e da biomassa microbiana em ambos biochars, sendo a dose 16 Mg ha<sup>-1</sup> o

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão  
 ponto de máximo COT em ambos os biochares (EBC e ECC) . Já o biochar EBC apresentou o ponto de máximo CBM na dose 16 Mg ha<sup>-1</sup> .



**Figura 2:** Efeito de aumentado das doses de biochar (4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>) sobre carbono orgânico do solo (A) e carbono da biomassa microbiana (B) de entisol tratado com dois resíduos de cafés borra de café (BC) e casca de café (CC), cultivada com feijão. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os biochares dentro de cada dose; letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as doses do biochar EBC e letras maiúsculas em itálico indicam diferenças entre as doses do biochar ECC pela ANAVA seguido do teste de Tukey em  $P \leq 0,05$ .

#### 4.3.4 Atividades enzimáticas absolutas

A atividade microbiana avaliada pelo diacetato de fluoresceína (FDA), apresentou diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre as médias observadas nas doses 4 Mg ha<sup>-1</sup> e 8 Mg ha<sup>-1</sup>. Pois para os biochares foi os de maiores doses que apresentaram melhores respostas em relação as demais (Figura 3A).

Biochar de café aplicado ao solo cultivado com feijão fez com que a Beta-glucosidase (atividade enzimática do ciclo do carbono) apresentasse diferenças

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão significativas na dose 4 Mg ha<sup>-1</sup>. Entretanto, para os biochars de maiores doses foram as que apresentaram melhores respostas (Figura 3B).

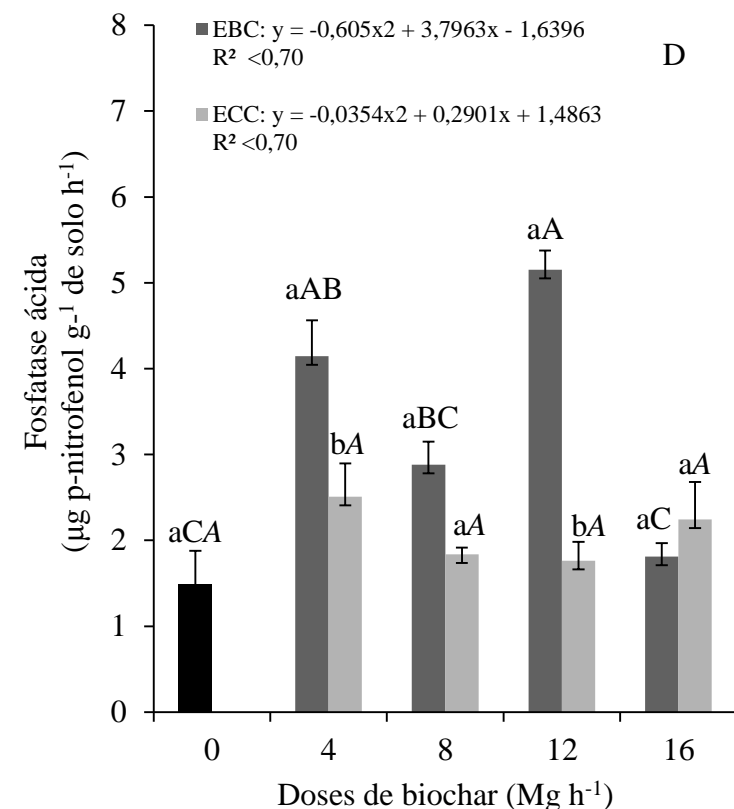
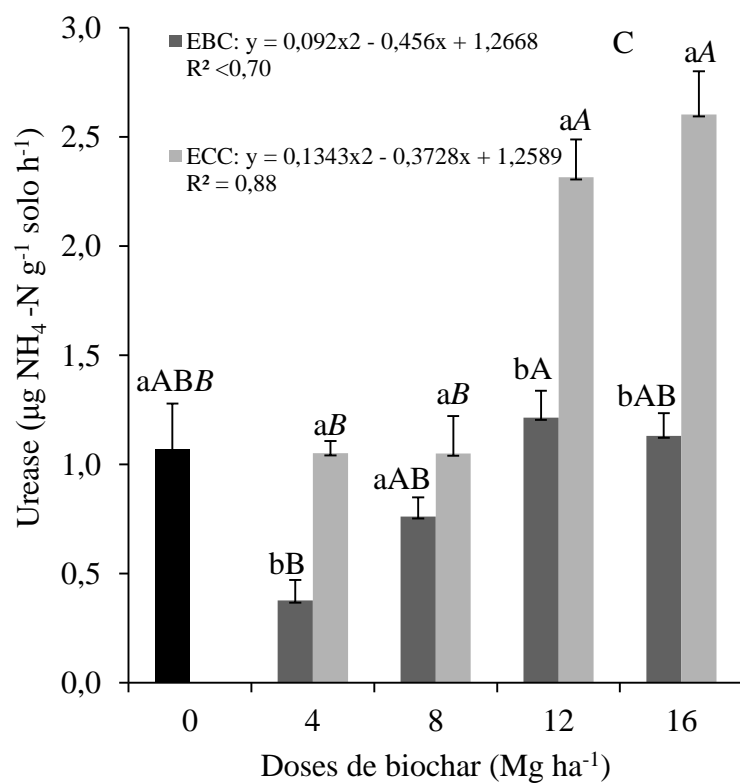
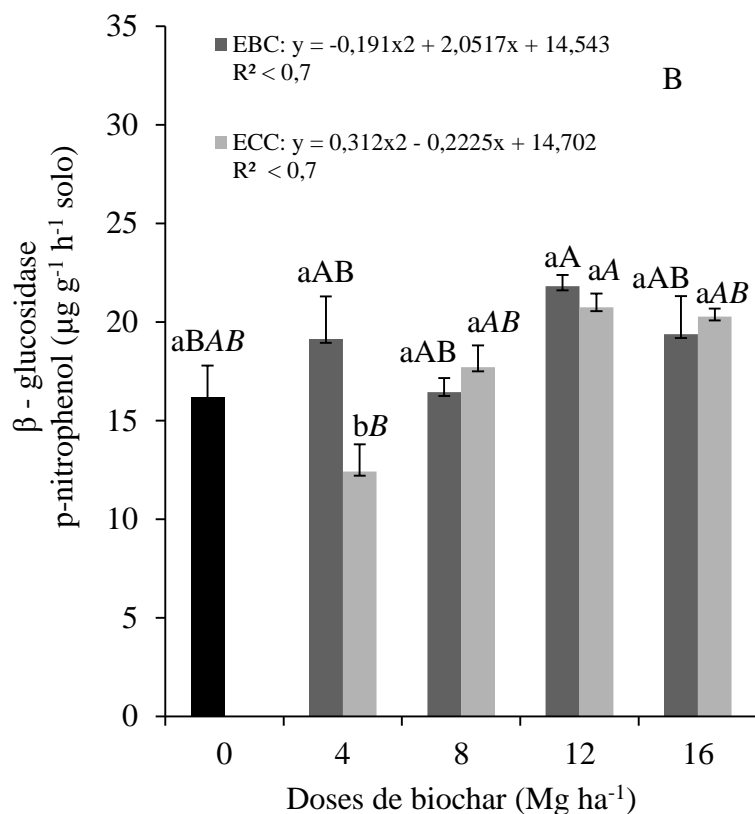
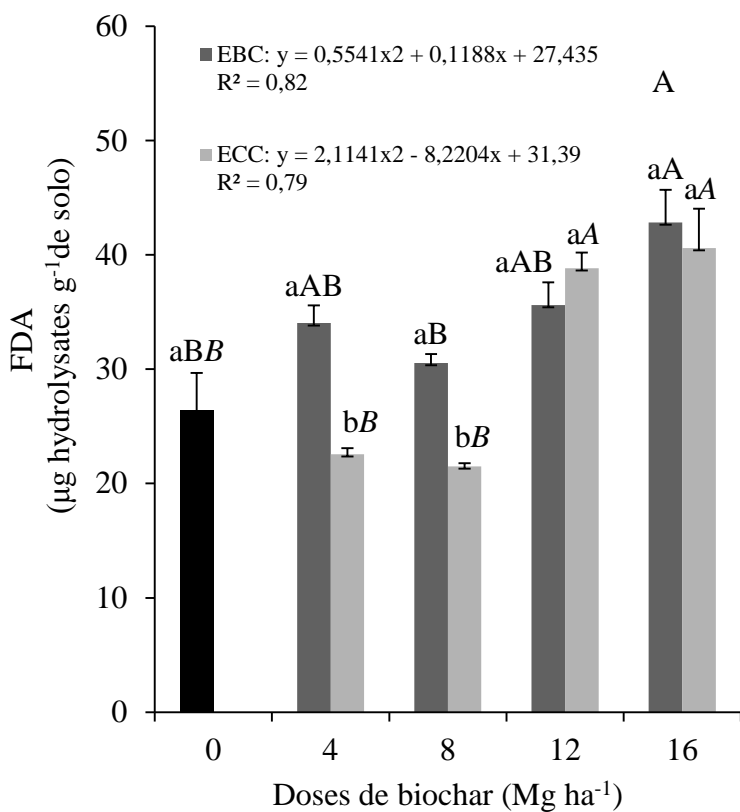
O biochar de café apresentou uma tendência de aumentar a atividade da urease com o aumento da dose, porém o ECC12 e ECC16 foram os que apresentaram as maiores atividades desta enzima, 103% e 137,5%, respectivamente, em relação ao controle e quando comparado à borra de café (Figura 3C).

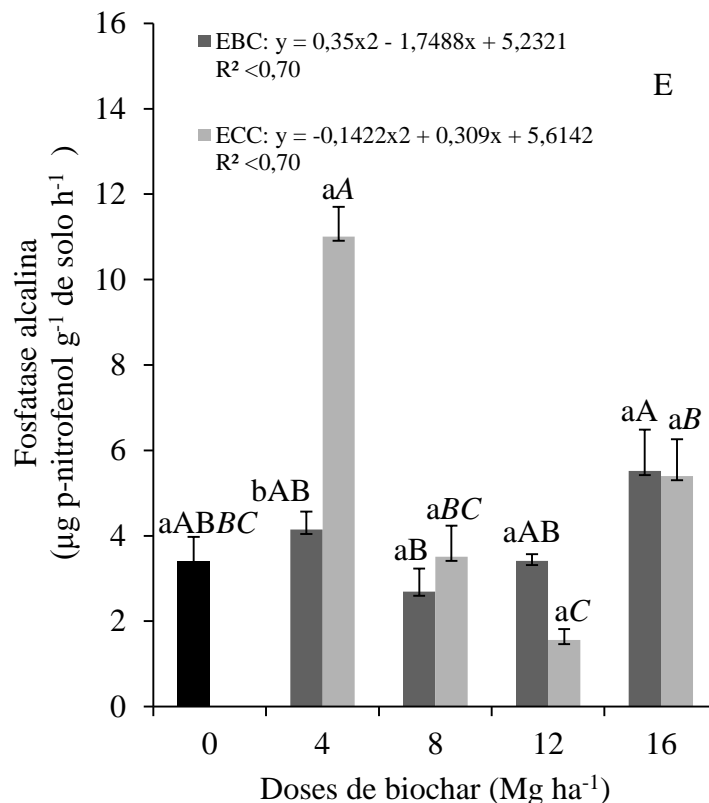
Para a atividade da fosfatase ácida foram alteradas com aplicação do biochar EBC nas concentrações 4 Mg ha<sup>-1</sup> e 12 Mg ha<sup>-1</sup>, apresentando diferença entre os demais tratamentos. Para os biocarvões avaliados, foi verificado que a atividade da fosfatase ácida apresentou melhores resultados quando utilizado o resíduo de borra de café nas doses 4 Mg ha<sup>-1</sup> e 12 Mg ha<sup>-1</sup> (Figura 3D).

O resíduo de café que melhor se adequou para a atividade da fosfatase alcalina foi a casca de café que ocasionou diferença significativa entre as medidas avaliadas na dose 4 Mg ha<sup>-1</sup>, apresentando o melhor resultado o biochar de casca de café (Figura 3E).

Curvas polinomiais de segundo grau explicaram o comportamento do FDA e das  $\beta$ -glucosidase ( $\beta$ -GLU), fosfatase ácida (FAC) e alcalina (FAL), e urease (URE), sendo a dose 16 Mg ha<sup>-1</sup> o ponto de máximo do FDA,  $\beta$ -glucosidase ( $\beta$ -GLU) e urease (URE) em ambos os biochars (EBC e ECC). Na enzima FAL o ponto máximo dos biochar EBC foi na dose 16 Mg ha<sup>-1</sup>.

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão





**Figura 3:** Atividades Absolutas A) FDA B) Beta-glucosidase, C) Urease, D) fosfatase ácida e E) fosfatase alcalina de entisol tratados com dois cafés biochars de borra (BC) e casca de café (CC), cultivada com feijão. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os biochars dentro de cada dose; letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as doses do biochar EBC e letras maiúsculas em itálico indicam diferenças entre as doses do biochar ECC pela ANOVA seguido do teste de Tukey em  $P \leq 0,05$ .

#### 4.3.5 Atividades enzimáticas específicas por unidade de carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana

A atividade enzimática específica por unidade de carbono orgânico total como urease, fosfatase ácida e alcalina, apresentou diferença significativa com a adição do biochar de CC4 e 8, BC4 e 12 e CC4 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabela 3). O melhor resíduo para as enzimas específicas por COT para fosfatase ácida foi à casca de café e para a alcalina foi à borra de café. Já para a enzima específica por COT de FDA e beta não apresentou diferença entre os tratamentos. O efeito do resíduo nas atividades específicas por unidade de carbono da biomassa microbiano (CBM) gerou um aumento significativo nas doses 4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup> para a BC 4 e 12, respectivamente para a FDA, beta, urease, fosfatase ácida e alcalina (Tabela 3).

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

**Tabela 3:** Atividades enzimáticas específicas por unidade de carbono orgânico do solo (COT) e por unidade de carbono da biomassa microbiana (CBM) em solo arenoso com biochar cultivado com feijão.

	EBC						ECC					
	0	4	8	12	16	Regressão	0	4	8	12	16	Regressão
FDA/COT	0,25aA	0,26aA	0,24aA	0,31aA	0,33aA	$y = 0,0075x^2 - 0,0249x + 0,2704$ $R^2 = 0,77$	0,25aA	0,19bA	0,20aA	0,31aA	0,30aA	$y = 0,0133x^2 - 0,0588x + 0,281$ $R^2 < 0,70$
BETA/COT	0,14aA	0,15aA	0,13aA	0,19aA	0,14aA	$y = -0,0043x^2 + 0,0292x + 0,111$ $R^2 < 0,70$	0,14aAB	0,11aB	0,16aAB	0,17aA	0,12aAB	$y = -0,0049x^2 + 0,0315x + 0,0995$ $R^2 < 0,70$
URE/COT	0,91aAB	0,29bC	0,41bBC	1,16bA	0,93bA	$y = 0,1007x^2 - 0,5118x + 1,1672$ $R^2 < 0,70$	0,91aC	0,86aBC	1,52aAB	1,87aA	1,93aA	$y = -0,0072x^2 + 0,3483x + 0,45$ $R^2 = 0,89$
Fac/COT	1,26aC	3,34aB	2,30aB	4,55aA	1,33aC	$y = -0,5214x^2 + 3,264x - 1,4986$ $R^2 < 0,70$	1,26aA	2,06bA	1,71aA	1,41bA	1,63aA	$y = -0,0782x^2 + 0,4788x + 1,0392$ $R^2 < 0,70$
Falc/COT	2,95aA	3,34bA	2,14aA	3,02aA	3,92aA	$y = 0,2212x^2 - 1,1648x + 4,1345$ $R^2 < 0,70$	2,95aB	8,92aA	3,28aB	1,26aB	3,98aB	$y = -0,2068x^2 + 0,6809x + 4,3124$ $R^2 < 0,70$
	EBC						ECC					
	0	4	8	12	16	Regressão	0	4	8	12	16	Regressão
FDA/CBM	0,10aBC	0,16aA	0,08aC	0,10aBC	0,13bAB	$y = 0,0031x^2 - 0,0181x + 0,1329$ $R^2 < 0,70$	0,10aBC	0,14aB	0,09aB	0,13aBC	0,18aA	$y = 0,0074x^2 - 0,0286x + 0,1325$ $R^2 < 0,70$
BETA/CBM	0,05aB	0,09aA	0,04bB	0,07aAB	0,06aB	$y = -0,0014x^2 + 0,0063x + 0,0587$ $R^2 < 0,70$	0,05aA	0,08aA	0,07aA	0,07aA	0,07aA	$y = -0,0022x^2 + 0,0159x + 0,0461$ $R^2 < 0,70$
URE/CBM	0,004aA	0,002bA	0,001bA	0,004bA	0,004bA	$y = 0,0005x^2 - 0,0026x + 0,0055$ $R^2 < 0,70$	0,004aA	0,01aBC	0,01aC	0,01aAB	0,01aA	$y = 0,0002x^2 + 0,0005x + 0,0034$ $R^2 = 0,95$
Fac/CBM	0,01aC	0,02aA	0,01aBC	0,02aAB	0,006aC	$y = -0,002x^2 + 0,0117x - 0,0021$ $R^2 < 0,70$	0,01aB	0,01bA	0,01aB	0,01bAB	0,01aAB	$y = -0,0004x^2 + 0,0023x + 0,0057$ $R^2 < 0,70$
Falc/CBM	0,01aA	0,02bA	0,01aA	0,01aA	0,019aA	$y = 0,001x^2 - 0,0057x + 0,0191$ $R^2 < 0,70$	0,01aBC	0,06aA	0,01aBC	0,01aC	0,02aB	$y = -0,0018x^2 + 0,0079x + 0,0203$ $R^2 < 0,70$

#### 4.4 Discussão

##### 4.4.1 Crescimento de feijão utilizando o biochar

O efeito do biochar sobre o crescimento das plantas varia com o tipo e a quantidade aplicada (PARK et al., 2011). Assim como neste estudo, em que o aumento na altura da planta de feijão no tratamento com biochar de casca de café na dose de ECC16 Mg ha<sup>-1</sup> permitiu maior crescimento da planta. Estudos mostram que a influência do biochar no crescimento de plantas é decorrente da característica porosa do biochar que proporciona habitats e substratos adequados, aumentando a atividade microbiana para a degradação dos minerais presentes no solo (ZHANG et al. 2014). Estes micro-organismos não apenas mobilizam substâncias biodegradáveis, mas também disponibilizam micronutrientes e outros elementos benéficos que favorecem o crescimento da planta (MUKHERJEE e ZIMMERMAN, 2013).

Prapagdee; Tawinteung. (2017) utilizaram biochar obtido do caule da mandioca, no crescimento, absorção e translocação de nutrientes da planta do feijão verde (*Vigna radiata* L.) e encontraram que o biochar melhora a qualidade do solo para o cultivo do feijão, sendo ótimo para o crescimento da planta, como a altura, e produção de sementes, corroborando com o presente trabalho que utilizou resíduos da indústria de café para produção do biochar e efeito sobre o crescimento inicial da planta de feijão.

O presente estudo mostra que a aplicação do biochar de café não aumentou a massa seca de plantas de feijão cultivadas em Neossolo Regolítico. Entretanto, aplicações de biochars são geralmente destinadas a aumentar o rendimento de culturas e há evidências de que isso pode ser bem sucedido, podendo também haver em curto prazo efeitos negativos sobre os rendimentos (GALINATO et al., 2011). Esses efeitos podem estar ligados à degradação ou compostos fitotóxicos orgânicos solúveis que estão associados à carbonização por pirólise (BORCHARD et al., 2014). No presente estudo, o aumento discreto da massa seca de plantas de feijão em que foi aplicado o ECC pode ser devido ao aumento de nutrientes que estão disponíveis no solo e com isso ocorre o aumento da biomassa microbiana que causa aumento ou diminuição do crescimento de plantas devido os nutrientes estarem disponíveis no solo. Este aumento da massa seca da parte aérea está relacionado ao efeito causado pela capacidade do biochar em sequestrar o C na decomposição do carbono total do solo, o melhor estabelecimento das plantas que ocorre

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação



Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão devido à melhoria de umidade do ambiente durante a adição do biochar (BIEDERMAN et al., 2017).

A aplicação do biochar de café ao solo arenoso aumentou a altura do feijão, porém não houve um aumento significativo do diâmetro e na MSPA, avaliado aos 45 dias de experimento. Esta pequena diferença pode estar relacionada ao pouco tempo de avaliação ou à baixas doses de biochar aplicadas ao solo. Neste sentido, Reed et al. (2017) analisando o efeito do biochar derivado da madeira a longo prazo na qualidade do solo e produtividade da colheita, também observou que suas doses de biochar aplicadas foram insuficientes e por este motivo não apresentou grandes alterações na produtividade. Provavelmente a dose aplicada de biochar de café tenha sido insuficiente ou o tempo de avaliação das plantas de feijão não foi adequado para que o biochar influenciasse as características das plantas de forma indireta que é através da eficiência do uso de água, na estrutura do solo e nos micro-organismos (LEHMANN et al., 2011).

#### 4.4.2 Características químicas do solo após o experimento

O biochar de café adicionado ao solo apresentou um aumento significativo nos atributos químicos do solo e no pH. Isso pode ser explicado pelos altos elementos que estão presentes na superfície do biochar ou pela associação do solo com adição do biochar que pode mobilizar a atividade microbiana que degrada os componentes do solo tornando os nutrientes disponíveis para a planta (LIU et al., 2017).

A pirólise leva à acumulação de substâncias alcalinas na superfície do biochar, que aumenta o pH do solo e está ligada a disponibilidade de nutrientes, como o fósforo entre outros (HE et al., 2017). Quando biochars são aplicados em solos ácidos pode exercer a função de corretivo do solo, como foi observado no presente estudo aumento, assim, o pH do solo conforme as doses foram aumentando, sendo o biochar ECC o de melhor desempenho. Tais dados corroboram os de Hossain et al. (2011) que observaram que a pirólise tem um efeito significativo nas propriedades químicas.

#### 4.4.3 Carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana

O biochar de café incorporado ao solo estimulou o aumento no carbono orgânico total nas maiores doses do substrato de café. As frações estabilizadas de carbono têm passado por mudança a milhares de anos e contribuem para formas lábeis de COT, que têm uma influência nas propriedades do solo, tais como a ciclagem de nutrientes e estabilidade

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão de agregados (YANG et al., 2017). Este aumento está relacionado ao fato de que o biochar em doses mais elevadas fornece maiores quantidades de carbono estável ao solo, ocasionando um aumento no armazenamento do carbono orgânico total, de forma a melhorar a estrutura do solo (ZHOU et al., 2017), assim como observado neste Neossolo Regolítico cultivado com feijão.

Resultados relatados por Hartley et al. (2016) foi consistente com o presente estudo, pois observou que utilizando o biochar de madeira em solos arenosos, modificou a estrutura e aumenta o carbono orgânico total em todos os solos tratados com biocarvão. O autor afirma que este aumento é devido à estabilidade dos componentes estruturais do solo que melhora através da aplicação do biochar interagindo com minerais do solo.

O aumento do carbono da biomassa microbiana neste estudo pode ser explicado em grande parte, pela maior disponibilidade de MOS (substrato) ou pela quantidade de matéria volátil o carbono lábil ou extraível e aos nutrientes presentes no biochar disponíveis ao solo (ZHOU et al., 2017). O crescimento microbiano no solo é potencialmente promovido após a adição de biochar em curto prazo, ainda que o tamanho da biomassa microbiana fosse menor em relação ao carbono. Este elemento apresenta um grande potencial, para a atuação deste biocarvão com o habitat adequado para o crescimento microbiano (LEHMANN et al., 2015).

O biochar apresenta uma resistência à decomposição microbiana, devido à sua alta aromaticidade e baixa polaridade. É um composto rico em C orgânico que fornece C orgânico lábil para utilização do crescimento microbiano. Acredita-se que o aumento da biomassa microbiana do solo é devido à adição de biochar que possui uma grande área de superfície que proporciona a microhabitat favorável para as comunidades microbianas do solo (KHADEM e RAIESI, 2017).

Xu et al. (2016) observaram um aumento no CBM nas maiores concentrações de biochar de palha de milho ao solo, em relação ao controle. Esses autores afirmam que isso pode ser devido ao C lábil do biochar que aumentou a concentração microbiana do solo que terá um possível ciclo de nutriente, corroborando com o presente estudo.

#### 4.4.4 Atividades enzimáticas absolutas

O diacetato de fluoresceína (FDA) é hidrolisado por diversas enzimas e é utilizada na quantificação de células ativas e para caracterizar a atividade microbiana do solo. Seu

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão  
aumento em resposta às doses mais altas dos diferentes tipos de biochars de café no Neossolo Regolítico cultivado com feijão aponta que tais doses podem estimular a comunidade microbiana, devido ao alto teor de matéria orgânica presente no solo (BERA et al., 2016; GREEN et al., 2006).

Bhaduri et al. (2016) utilizando o biochar de casca de amendoim adicionado em solos salinos, observou também um aumento na hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA), afirmando que isso é devido ao efeito osmótico sobre a microflora do solo. Da mesma forma, Sarma et al. (2017) observaram aumentos de FDA em solo que receberam biochar de madeira. Esses autores afirmam que isso deve ter ocorrido pela aplicação de biochar que contribuiu para o aumento da matéria orgânica que está ligado à atividade da FDA.

O biochar de café adicionado ao solo arenoso cultivado com feijão influenciou no aumento da atividade da  $\beta$ -glucosidase (ciclo do C) em solo cultivado com feijão. A  $\beta$ -glucosidase é uma enzima envolvida na mineralização do carbono a partir da degradação da matéria orgânica exógena (KADER et al., 2017). A atividade desta enzima está altamente associada à disponibilidade de substrato de carbono que é facilmente mineralizado sendo um condutor para as alterações da atividade enzimática que podem aumentar devido à adição de biochar (LUO; GU, 2016). O biochar altera a atividade enzimática através do substrato e essa alteração varia com a natureza dos resíduos e adsorve a enzima substrato para hidrolisá-la (SUN et al., 2014.; SWAINE et al., 2013).

Resultados semelhantes observados por Demisie et al. (2014) em que se analisou o efeito de dois tipos de biochars de madeira de carvalho e bambu na atividade enzimática do solo a  $\beta$ -glucosidase, sugerindo estímulo das atividades microbianas no solo. Wang et al. (2015) também analisaram as propriedades físico-químicas do biochar de milho e seus efeitos sobre a atividade enzimática no solo com fertilizante e observaram os efeitos do biochar sobre as atividades enzimáticas, indicando que estas atividades têm relação com a temperatura de pirólise ao qual o biochar foi produzido, da enzima em particular e do tempo de incubação. Aqui, o biochar foi produzido à 450 graus e os efeitos foram iguais para a atividade da enzima.

A atividade da urease aumentou nas maiores doses de biochar de casca de café devido ao biochar estar associado ao aumento na atividade da enzima que promove transformação de nitrogênio (HUANG et al., 2017; ZHANG et al., 2017). Este aumento pode ser devido à presença de compostos contidos no biochar que atua como um substrato.

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

Acredita-se que o biochar atua como armazém de carbono e nutrientes, o que favorece um crescimento da microbiota do solo (JAIN et al., 2016; LEHMANN et al., 2011).

Wang et al. (2015) analisando o impacto do biochar de palha de milho observaram um acréscimo significativo na enzima urease, pois o biocarvão apresentou compostos orgânicos e inorgânicos que afetou as enzimas relacionadas ao ciclo do N. Isto foi observado em estudo conduzido por Huang et al. (2017) onde foi analisado o biochar de palha de arroz e foi incorporado em um sedimento de cascalhos e resíduos de plantas, esses autores verificaram um aumento da atividade da urease.

A atividade fosfatase ácida presente nas substâncias extracelular (EPS) e na parede celular bacteriana, são um grupo de enzimas responsáveis por catalisar uma enorme variedade de fosfomonoésteres e reações de transfosforilação em meio a um pH ácido (BEHERA et al. 2017). Acredita-se que o biochar tenha influência relevante em micro-organismos que estão associados com as transformações de nutrientes no solo, podendo haver sensibilidade dos micro-organismos às mudanças após a adição de biochar que tem diversos efeitos nas propriedades químicas do solo, como no pH (LEHMANN et al., 2011).

De acordo com a pesquisa de Jin et al. (2016), avaliando as influências do biochar de esterco nas propriedades do solo, observou-se que a atividade da fosfatase ácida decresceu com a adição do substrato, ocorrendo variações causadas possivelmente pelas influencias do biochar no pH e na composição do fósforo no solo. Neste estudo, houve um aumento da fosfatase ácida nas doses 4 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>.

A fosfatase alcalina na dose de 4 Mg ha<sup>-1</sup> da casca de café essa resposta pode ter ocorrido pela disponibilidade de nutriente e a absorção de fósforo que está presente no substrato . As dose maiores de biochar de café devem ter inibido a produção da enzima, isso pode explicar o aumento da produção da enzima fosfatase alcalina na menor dose (ABUJABHAH et al., 2016). O biochar possui uma relação direta com os micro-organismos que transformam os nutrientes presentes no solo (LEHMANN et al., 2011), podendo ter tido alguma interferência na produção desta enzima em Neossolo Regolítico cultivado com feijão.

Segundo Al Marzooqi et al. (2017) afirma que o aumento da fosfatase alcalina está relacionado com as interações físico-químicas do biochar, o que pode explicar o por quê da melhor resposta ter sido na dose 4 Mg.ha<sup>-1</sup>. Resultados semelhantes observados por Jin et al. (2016) analisando a influência do biochar produzido de estrume de suíno, afirma que aumento da fosfatase alcalina está relacionada a proliferação microbiana e pela maior disponibilidade de nutrientes.

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

#### 4.4.5 Atividades enzimáticas específicas por unidade de carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana

Os biochars de café aplicado ao Neossolo Regolítico cultivado com feijão apresentou aumentos das atividades enzimáticas específica por COT e isso está relacionado ao teor de C e a perda da matéria orgânica, estando relacionado ao fato de que a matéria é degradada pelos micro-organismos e a fração mais humificada permanece, contendo enzimas ligadas aos colóides do solo, com isso apresentando um aumento relativo destas enzimas específicas, podendo está perda gerar tensões na microbiota do solo e causar melhora nas enzimas sob tensões (RAIESI E BEHESHTI, 2014; WANG et al., 2012).

As atividades enzimáticas específicas podem ser usadas como indicadores de implicações ecológicas imediatas, portanto, estão relacionadas com as modificações que ocorrem nas comunidades microbianas do solo (ZHANG et al., 2015). O aumento desta atividade específica por unidade de CBM no solo indica que isto pode interferir nos micro-organismos do solo que são metabolicamente mais ativos, pois isso ajuda a detectar o estado metabólico da comunidade microbiana, bem como a variabilidade desta atividade também está relacionada à disponibilidade de nutrientes no solo (MEDEIROS et al., 2017; MEDEIROS et al., 2015; LAGOMARSINO et al., 2011).

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

#### 4.5 Conclusão

O biochar de café aplicado a solo arenoso em vaso foi eficiente no crescimento do feijão, sendo mais expressivo nas doses mais elevadas.

O biochar produzido a partir de resíduos do café incrementou os atributos químico, físicos, microbiano e bioquímicos de Neossolo Regolítico cultivado com feijão. Recomenda-se o aproveitamento de resíduos da indústria de café para a produção do biochar e aplicação na cultura do feijoeiro em doses a partir de 16 Mg ha<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

## 5. BIOMASSA MICROBIANA E ATIVIDADES ENZIMÁTICA DE UM SOLO ARENOSO TRATADO COM BIOCHAR DE CAFÉ, CULTIVADO COM MILHO<sup>2</sup>

### Resumo

O milho é um dos produtos agrícolas mais importantes no mundo, pois participa na formação da renda do agricultor e contribui na alimentação dos animais. O uso de biochar pode trazer benefícios ao solo e ao meio ambiente, como a atuação no sequestro de carbono em longo prazo mitigando os efeitos das alterações climáticas e também apresenta um maior rendimento para a cultura. O objetivo deste estudo foi avaliar o impacto da aplicação do biochar de café em solo arenoso sobre o crescimento do milho, atributos químicos, microbianos e bioquímicos em Neossolo Regolítico. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com esquema fatorial 2x4+1 sendo dois tipos de resíduos borra de café (BC) e casca de café (CC), e 4 doses cada e mais um controle de esterco bovino (EB) sendo disposto da seguinte forma, EB= dose 0, EBC4, EBC8, EBC12 e EBC16= biochar de borra de café, nas doses de 4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente; ECC4, ECC8, ECC12 e ECC16= biochar de casca de café nas doses de 4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>. Todos os tratamentos receberam adubação orgânica. Aos 45 dias após a semeadura, as plantas de milho foram retiradas e procedeu-se a coleta de solos para avaliação das atividades microbianas e bioquímicas. A altura da parte aérea da planta que recebeu o tratamento EBC4 obteve um acréscimo de 1,40%, entretanto, não apresentou diferença estatística em relação ao controle (EB). Solos que receberam EBC16 e ECC12 obtiveram um aumento significativo de carbono da biomassa microbiana com aumento de 100,01 e 116,28%, respectivamente, em relação ao controle (EB). Solos com EBC8 se destacou consideravelmente em relação à fosfatase alcalina, com acréscimos de 216,86% com relação ao controle (EB). As enzimas específicas tanto pelo carbono da biomassa microbiano como pelo carbono orgânico total apresentaram respostas ao biochar de café. O biochar produzido a partir de resíduos de café foi eficiente para a melhoria da qualidade do Neossolo Regolítico, porém em um primeiro ciclo da cultura, não foram observados aumento significativo no crescimento inicial do milho.

**Palavras-chave:** *Zea mays*, carbono orgânico total, borra de café, casca de café.

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

## 5.1 Introdução

O café é uma das bebidas mais consumidas do mundo e conta com uma produção de 8 milhões de toneladas por ano, sendo um dos produtos mais comercializados. Aproximadamente 60 países tropicais e subtropicais produzem café em larga escala, representando para alguns deles o principal produto de exportação, se tornando uma das principais commodities do mundo. A principal importância econômica do café é resultante do consumo como bebida (RICCIARDI et al., 2017).

A indústria e o consumo geram grandes quantidades de resíduos sólidos como, por exemplo, a borra e a casca de café. Atualmente, não existe uma destinação sustentável desses resíduos, acarretando em um grande problema ambiental (BAGGIO et al., 2006). Entre tanto poderiam ser utilizados como adubo orgânico por agricultores, pois fornece uma grande quantidade de matéria orgânica.

Uma forma de aproveitar os resíduos é pela produção de biochar que é obtido através da pirólise de resíduos de biomassa em condições de presença mínima de oxigênio (ENNIS et al., 2012; ZHANG et al., 2017). O uso de biochar pode trazer benefícios ao solo e ao meio ambiente, como a atuação no sequestro de carbono em longo prazo mitigando os efeitos das alterações climáticas (BIRD et al., 2017). Aumenta a retenção de nutrientes do solo e a capacidade de troca de cátions, melhorando a fertilidade e a produção de culturas (QU et al., 2016). Essa mudança provocada pelo biochar pode resultar na alteração da estrutura da comunidade microbiana, alterando, o ciclo e a função do componente da fertilidade solo é alterada (BIEDERMAN; HARPOLE, 2013).

O biochar possui componentes como, minerais, compostos orgânicos voláteis e também a presença de radicais livres, influenciando a atividade microbiana de forma a remodelar a estrutura da comunidade microbiana e alterar a atividade enzimática do solo que catalisa vários processos ligados à síntese de matéria orgânica e dos ciclos biogeoquímicos (ZHU et al., 2017). Por isso, é essencial o estudo das variações causadas pelo biochar, pois existem vários tipos de resíduos utilizados para obtenção do biochar que podem favorecer a atividade enzimática e microbiana do solo.

A cultura do milho (*Zea mays* L.) tem grande importância econômica e social, pelo valor nutricional de seus grãos e por seu uso intenso, nas alimentações humana e animal e como matéria-prima para a indústria, sendo o cereal mais produzido do mundo,

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação



Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão representando aproximadamente 21% da nutrição humana (GALVÃO et al., 2014). No Brasil, a safra 2014/15 obteve uma produção de aproximadamente 84 milhões de toneladas e estima-se que a safra de 2016/17 irá superar os 84 milhões de toneladas (CONAB, 2016). No Nordeste, o milho é um dos produtos agrícolas mais importantes, pois participa na formação da renda do agricultor e contribui na alimentação dos animais.

Levando em consideração a importância de se reutilizar resíduos gerados tanto pela indústria quanto pelo consumo mundial de café, os benefícios que o biochar pode trazer e a crescente busca por formas alternativas de produção do milho, este estudo objetivou avaliar o impacto da aplicação do biochar de café em solo arenoso sobre o crescimento do milho, bem como os impactos causados nos atributos químicos, microbiano e bioquímico em Neossolo Regolítico.

## 5.2 Material e Métodos

### 5.2.1 Produção e caracterização dos biochars

Os dois biochars foram produzidos por meio de pirólise lenta, num pequeno forno térmico, o qual foi baseado num modelo amplamente utilizado pelos agricultores tailandeses (PRAKONGKEP et al., 2015). Foram utilizados dois diferentes tipos de biomassa para a produção dos biochars: casca de café (CC) e borra de café (BC). A escolha desses resíduos se deu pela alta disponibilidade na região e no Brasil. Os biochars foram produzidos por meio do processo de combustão incompleta dos resíduos, colocando-se os mesmos (LIMA et al., 2018) no cilindro interno e as análises química e físicas dos biochars estão apresentadas na (Tabela 1).

### 5.2.2 Instalação do experimento em casa de vegetação

O experimento foi realizado em casa de vegetação em potes plásticos. O solo utilizado foi um Neossolo Regolítico Eutrofico típico (SANTOS et al., 2012) e caracterizado conforme EMBRAPA (2009) (Tabela 1), coletado na camada de 0-20 cm de profundidade em uma floresta tropical seca em região semiárida do Brasil (8° 52' 30'' S; 36° 22' 00'' O, com altitude de 705 m). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com esquema fatorial 2x4+1 sendo dois tipos de resíduos borra de café (BC) e casca de café (CC), e 4 doses cada e mais um controle de esterco bovino (EB) sendo disposto da seguinte forma, EB= dose 0, EBC4, EBC8, EBC12 e EBC16= biochar de borra de café, nas doses de 4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente; ECC4, ECC8, ECC12 e

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

ECC16= biochar de casca de café nas doses de 4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>. Todos os tratamentos receberam adubação orgânica.

Os potes com capacidade para 4L foram preenchidos com solo arenoso e as doses de biochar, misturados completamente e em seguida foi adicionado 30g de esterco coletado da clínica de bovinos e foram cultivados em cada pote quatro sementes de milho (variedade comercial 1058) comum da região e previamente tratadas com fungicida. Após uma semana foi feito o desbaste e deixada uma planta por vaso. A irrigação foi realizada de acordo com a capacidade de campo, cada unidade experimental foi pesada e adicionada água destilada de acordo com o peso do vaso no intervalo de dois dias.

Aos 45 dias após a semeadura, as plantas de milho foram avaliadas e procedeu-se a coleta de solos para avaliação das atividades microbianas e bioquímicas. Foram retiradas 10 amostras equidistantes em cada vaso, realizada a mistura, peneirado em uma malha de 2 mm.

### 5.2.3 Variáveis analisadas na planta

As alturas das plantas de feijão foram estimadas pela medição em centímetro do colo da planta até o ápice caulinar de cada pote. Os diâmetros das plantas foram medidos com o paquímetro e as medidas foram tomadas logo abaixo das folhas cotiledonares. As folhas, as hastes e os frutos foram secos em estufa com circulação forçada de ar a 65 °C até obter peso constante, quando, então, foi quantificada a massa de matéria seca da planta (DEMONTIÊZO et al., 2016; GONZALES et al., 2014).

### 5.2.4 Atributos físicos e químicos do solo e biochar após os 45 dias

As características de pH, e os teores de P, C, N, Mg, Ca, K, Al e H+Al, após o experimento foram determinados pelos métodos usados na análise de solo, como mencionado acima. No entanto, para a determinação do pH foi utilizada uma relação de 1:5 (biochar: água). Os teores de carbono (C) e nitrogênio (N) foram determinados via combustão a uma temperatura de 925 °C em analisador elementar CHNS-O (Perkin Elmer PE-2400). Para realização da análise foi utilizado aproximadamente 3 mg de amostra de solo. O padrão de referência utilizado foi a acetonalamida (C= 71,09%, H= 6,71%, N= 10,36%), sendo o equipamento padronizado a cada vinte amostras (Tabela 2).

### 5.2.5 Carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

O carbono orgânico total (COT) e a biomassa microbiana foram determinadas como no experimento anterior.

#### 5.2.6 Atividade enzimática absoluta e atividades enzimáticas específicas por unidade COT e CBM

As atividades enzimáticas absolutas e específicas foram determinadas conforme o experimento anterior.

#### 5.2.7 Análise de dados

Os dados foram analisados estatisticamente usando ANOVA para investigar o significado das diferenças de efeitos biochars sobre análise de culturas e atributos do solo. As diferenças significativas foram comparadas usando o teste de Tukey com uma probabilidade de 5%. Com as doses dos biochars foram selecionadas curvas de regressão para avaliar o ponto máximo de cada variável e a dose mais eficiente.

### 5.3 Resultados

#### 5.3.1 Crescimento do milho com biochar

O biochar incorporado ao solo, apresentou diferença significativa na altura das plantas na dose 4 e 16 nas médias observadas com o borra de café (BC) (Figura 1A).

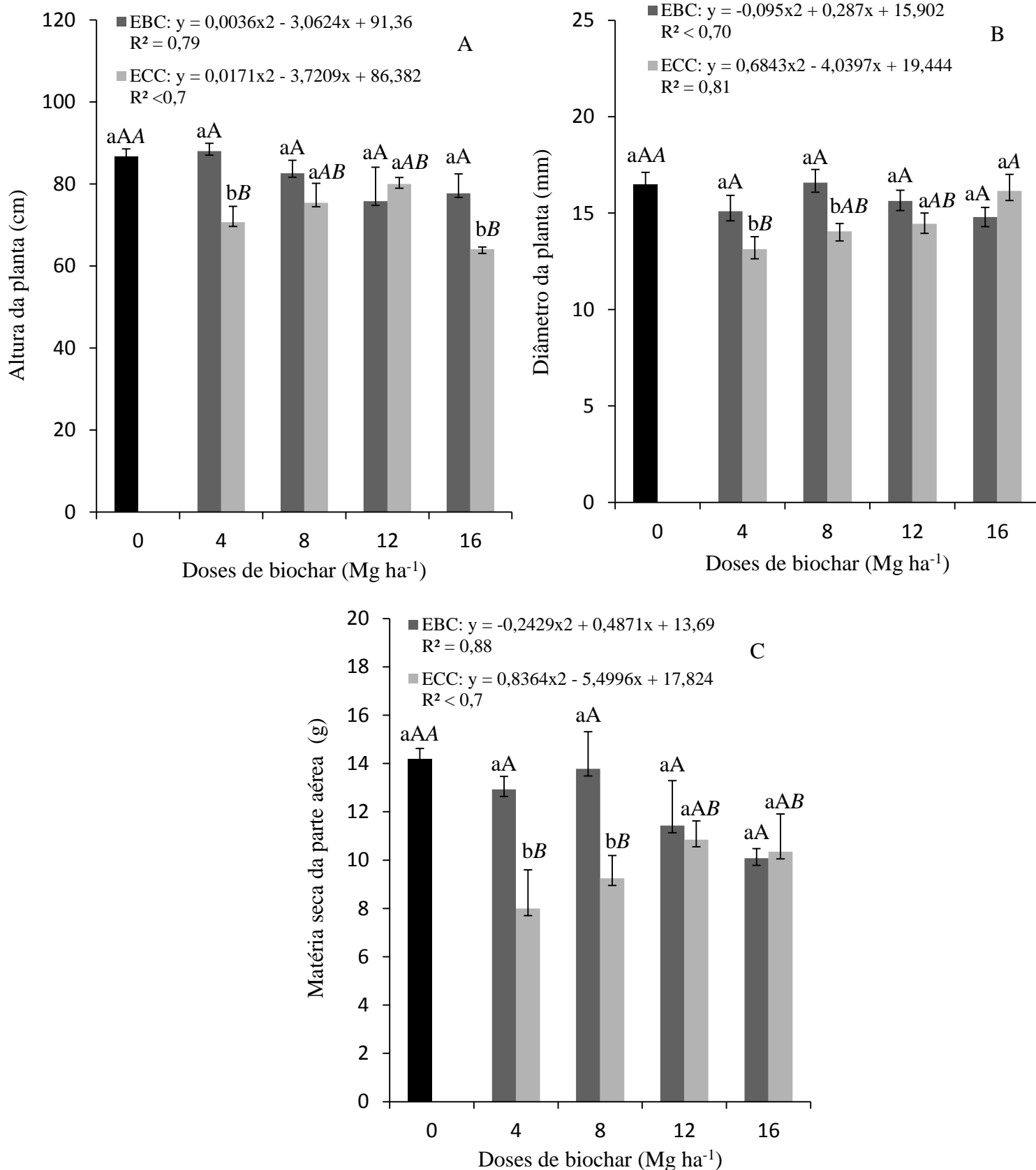
O biochar adicionado ao solo apresentou um efeito positivo para as doses 4 e 8 Mg há<sup>-1</sup>, nas médias observadas do diâmetro da planta. Sendo verificada no resíduo de borra de café. (Figura e 1B).

A aplicação de diferentes doses de biochar foi observado diferença significativa nas doses 4 e 8 Mg há<sup>-1</sup> entre as médias avaliadas na matéria seca da parte aérea. O resíduo que melhor se destacou foi à borra de café (Figura e 1C).

A aplicação de diferentes doses de biochar foi explicada de forma eficiente por equações polinomiais de segundo grau, com R<sup>2</sup> altamente significativo por ambos biochars.

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão



**Figura 1:** Efeito de doses elevadas de biochar (4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>) na altura da planta (A), diâmetro da planta (B) e matéria seca da parte aérea (C) de milho em Entisol. As barras representam erro padrão de quatro repetições. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os biochares dentro de cada dose; letras maiúsculas diferentes

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

indicam diferenças entre as doses do biochar EBC e letras maiúsculas em *itálico* indicam diferenças entre as doses do biochar ECC pela ANAVA seguido do teste de Tukey em  $P \leq 0,05$ .

### 5.3.2 Características químicas do solo após o experimento

A aplicação do biochar interferiu positivamente nos atributos químicos do solo, apresentando aumento significativo nas doses elevadas da resíduo casca de café (CC) nos seguintes elementos: pH, P, K, C e N, quando comparado com o resíduo da borra de café (BC). E para o Al e Na apresentou diferença entre as médias observadas no biochar de borra de café nas maiores doses. Entretanto, os teores de MG, Ca e H+Al não foram influenciados pela adição do biocarvão. Já para a soma de base (SB) e saturação por base (V%) foi observado uma interferência positiva para o resíduo de casca de café para as doses 12 e 16 Mg há<sup>-1</sup> respectivamente. No entanto, para a capacidade de troca de cátions (CTC) e na relação carbono e nitrogênio (C/N) não apresentou diferença significativa entre as médias observadas e nem para o resíduo adicionado ao solo. Mas podemos observar que o substrato que se adequou melhor para os atributos químicos do solo foi à casca de café (Tabela 2).

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

**Tabela 2:** Propriedades químico-físicas do biochar de borra de café (BC) e casca de café (CC) aplicados em diferentes concentrações em Neossolo Regolítico cultivado com milho.

TRAT.	pH	P	Mg	Ca	K	Al	Na	H+Al	SB	CTC	V	C	N	C/N	
	1:2,5	mg kg <sup>-1</sup>	-----cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> -----						----- %-----						
EB	4,3 aBC	7,1 aBC	1,06 aAA	0,63 aAA	0,09 aBC	0,20 aAA	0,09 aBC	4,3aAA	1,76aAB	6,27 aAA	28,4 aAB	1,08aBC	0,17aAB	6,6 aCC	
EBC4	5,0 aA	8,3 aAB	1,06 aA	0,65 aA	0,12 bB	0,15 aAB	0,14 bAB	3,9 aA	1,83 aA	5,90 aA	31,0 aA	1,60 aA	0,20aA	8,1abBC	
EBC8	5,1 bA	9,7 aAB	1,06 aA	0,75 aA	0,17 bAB	0,14 aB	0,13 aAB	4,3 aA	1,97 aA	6,36 aA	31,0 aA	1,62 aA	0,18aA	9,24 aAB	
EBC12	5,2 bA	9,6 aAB	1,06 aA	0,64 aA	0,18 bAB	0,15 aAB	0,13 aAB	4,1 aA	1,88 aA	6,16 aA	30,6 bA	1,51aAB	0,16aA	9,47 aAB	
EBC16	5,3 bA	9,9 bA	1,02 aA	0,58 bA	0,26 bA	0,15 aAB	0,15 aA	3,7 bA	1,86 bA	5,72 bA	32,5 aA	1,70 bA	0,16bA	10,82 aA	
ECC4	5,2 bB	7,2 aC	1,02 aA	0,65 aA	0,34 aB	0,18 aA	0,13 aBC	4,2 aA	2,01 aB	6,40 aA	31,5 aAB	1,56 aB	0,15 bB	10,3aAB	
ECC8	5,6 aA	8,0 aBC	1,02 aA	0,67 aA	0,43 aB	0,11 aB	0,15 aAB	4,0 aA	2,11aB	6,19 aA	34,2 aA	1,42aBC	0,15 aB	9,54 aB	
ECC12	5,8 aA	10,1 aB	1,05 aA	0,72 aA	0,46 aB	0,11 aB	0,20 aA	4,1 aA	2,23 aB	6,42 aA	34,7 aA	1,82 aB	0,17 aB	10,52aAB	
ECC16	5,9 aA	15,8 aA	1,08 aA	0,74 aA	0,65 aA	0,08 bB	0,03 bD	4,4 aA	2,48 aA	6,93 aA	35,7 aA	2,62 aA	0,23 aA	12,12 aA	
CV%	3,84	12,33	5,70	16,32	22,1	18,65	19,46	5,43	8,50	3,55	7,93	14,02	10,26	10,40	

As médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. SB Somas de bases, CTC capacidade de troca de cátions, V saturação por bases onde letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as doses do biochar EBC e letras maiúsculas em itálico indicam diferenças entre as doses do biochar ECC pela ANOVA seguido do teste de Tukey em  $P \leq 0,05$ .

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

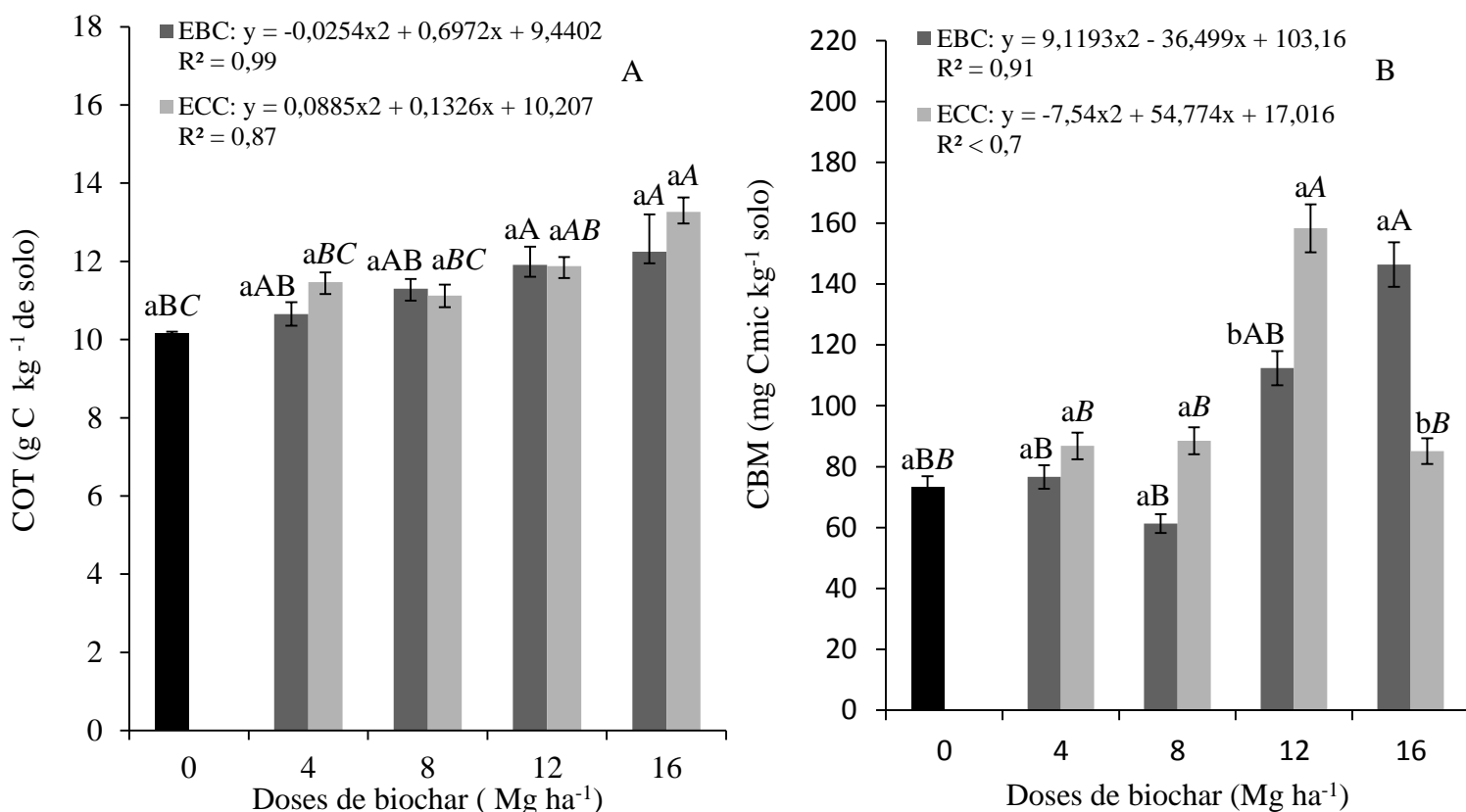
### 5.3.3 Carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana

O uso do biochar na cultura do milho não apresentou diferença significativa nas médias avaliadas para o carbono orgânico total e nem para os resíduos incorporados ao solo (Figura 2A).

A adição do resíduo de café apresentou uma influência positiva para as medidas analisadas para o carbono da biomassa microbiano (CBM) nas doses de 12 e 16 Mg há<sup>-1</sup> em biochars diferentes CC e BC respectivamente (Figura 2B).

Quando avaliado o carbono orgânico total, as curvas de regressões apresentaram comportamento similar ao carbono da biomassa microbiana, sendo selecionadas curvas polinomiais de segundo grau.

Curvas polinomiais de segundo grau explicaram o comportamento do carbono orgânico total e da biomassa microbiana em ambos biochars, sendo a dose 16 Mg há<sup>-1</sup> o ponto de máximo COT em ambos os biochars (EBC e ECC). Já para o carbono da biomassa microbiana apresentou ponto máximo na dose 12 Mg há<sup>-1</sup> para o ECC enquanto que o EBC foi na dose 16 Mg há<sup>-1</sup> o seu ponto máximo.



<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

**Figura 2:** Efeito de aumentado das doses de biochar (4, 8, 12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>) sobre carbono orgânico do solo (A) e carbono da biomassa microbiana (B) de entisol tratado com dois resíduos de cafés borra de café (BC) e casca de café (CC), cultivada com milho. As barras representam erro padrão de quatro repetições. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os biochars dentro de cada dose; letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as doses do biochar EBC e letras maiúsculas em itálico indicam diferenças entre as doses do biochar ECC pela ANAVA seguido do teste de Tukey em P≤0,05.

#### 5.3.4 Atividade enzimática absoluta

A atividade microbiana avaliada pelo diacetato de fluoresceína (FDA) aumentou significativamente na dose de 8 e 15 Mg há<sup>-1</sup>. E para o melhor resultado encontrado foi no biochar de borra de café (CC) (Figura 3A).

Verificou-se um aumento da atividade enzimática beta-glucosidase (ciclo do carbono). Quando foi adicionado o biocarvão ao solo nas doses de 8 e 16 Mg ha<sup>-1</sup> sendo como o melhor biochar de casca de café para esta atividade (Figura 3B).

A aplicação do resíduo de café apresentou uma tendência positiva na atividade de uréase, nas maiores doses do biocarvão onde observou no tratamento ECC12 um aumento de 54,22% em relação à dose zero (EB) (Figura 3C).

Na atividade enzimática da fosfatase ácida, nas doses 4 e 16 Mg há<sup>-1</sup> onde obteve-se um aumento significativo entre as médias analisadas na casca de café (CC) e na borra de café (BC) respectivamente (Figura 3D).

Percebe-se que na atividade de fosfatase alcalina, com aplicação do biochar nas doses 8 e 16 Mg há<sup>-1</sup> proporcionando um aumento significativo entre os dados observados, no tratamento EBC8 destacou-se consideravelmente com um acréscimo de 216,86% em relação a dose zero (Figura 3E).

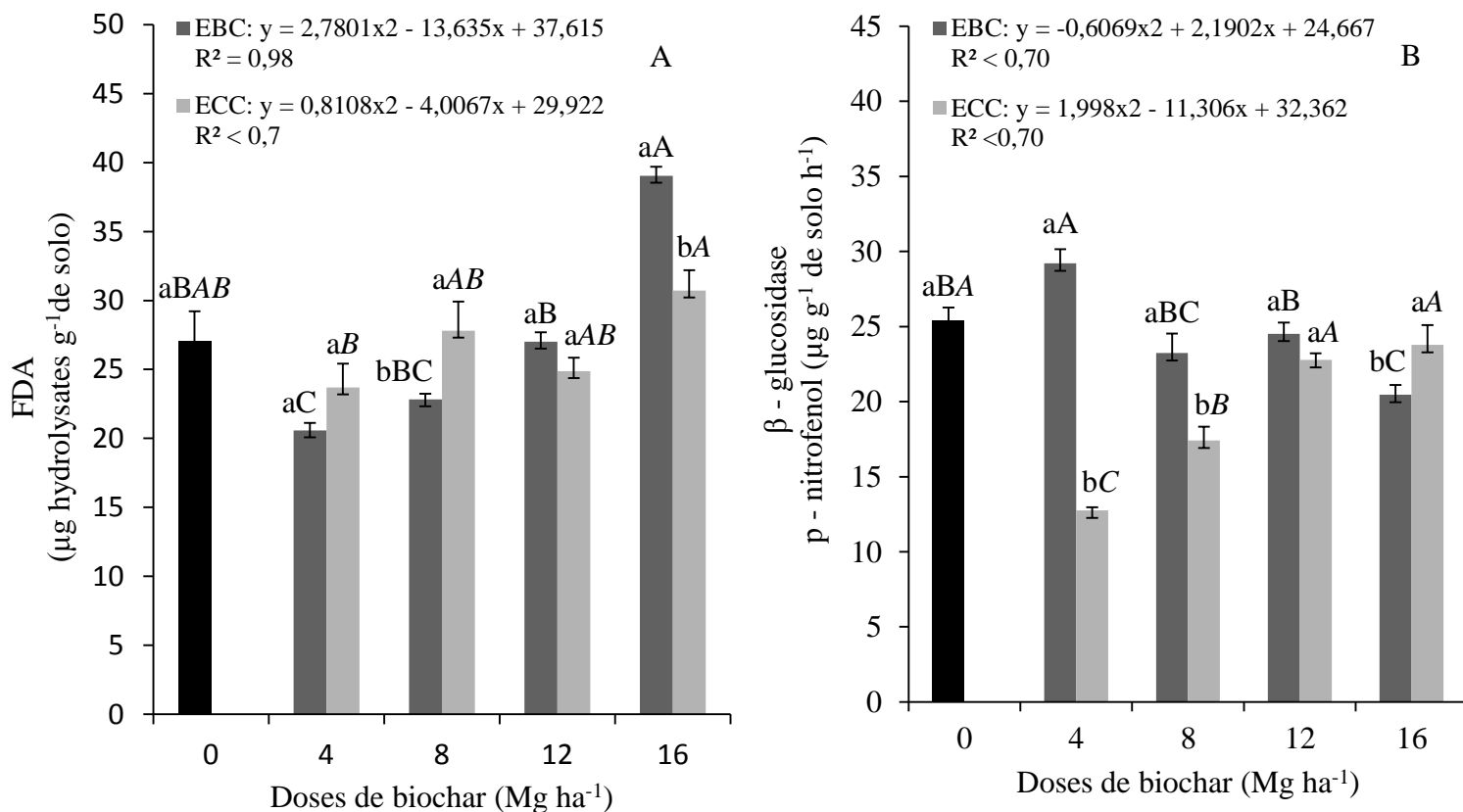
Deve ressaltar a similaridade de comportamento quanto às atividades enzimáticas, pois foram selecionadas curvas de regressões polinomiais de segundo grau com significância dos coeficientes de regressão.

Onde as curvas polinomiais de segundo grau explicaram o comportamento do FDA e das enzimas β-glucosidase (β-GLU), fosfatase ácida (FAC) e alcalina (FAL), e urease (URE), sendo a dose 16 Mg ha<sup>-1</sup> o ponto de máximo do FDA em ambos os biochars (EBC e ECC), o ponto máximo da β-GLU para o EBC foi na dose 4 Mg ha<sup>-1</sup> e para o ECC o ponto máximo foi na dose na dose 16 Mg ha<sup>-1</sup>. Já para a enzima FAC não apresentou ponto máximo pois não teve diferença significativa em relação ao controle (EB). Na enzima FAL os pontos máximos no EBC foram às doses 4 e 8 Mg ha<sup>-1</sup> e no ECC os pontos

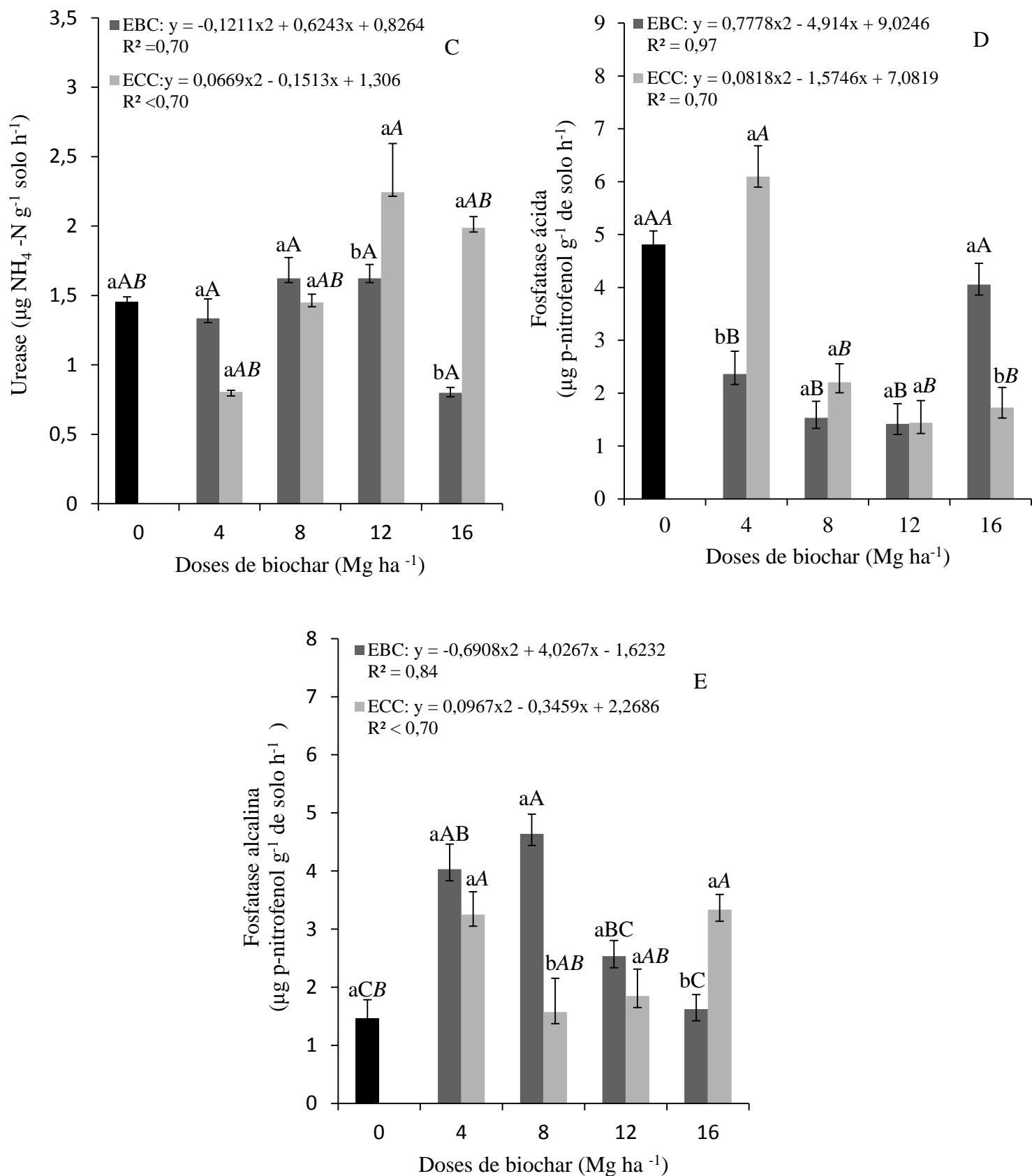
<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação



Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão máximos foram nas doses 4 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>. Para a enzima URE os pontos máximos no biochar ECC foram observados na dose 16 Mg ha<sup>-1</sup>, já para o biochar EBC não houve ponto máximo, pois não ocorreu diferença significativa das doses em relação ao controle.



Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão



**Figura 3:** Atividades Absolutas A) FDA B) Beta-glucosidase, C) Urease, D) fosfatase ácida e E) fosfatase alcalina de entisol tratados com dois cafés biochars de borra (BC) e casca de café (CC), cultivada com milho. As barras representam erro padrão de quatro

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

repetições. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os biochars dentro de cada dose; letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as doses do biochar EBC e letras maiúsculas em *itálico* indicam diferenças entre as doses do biochar ECC pela ANAVA seguido do teste de Tukey em  $P \leq 0,05$ .

### 5.3.5 Atividade enzimática específica por unidade de carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana.

As atividades enzimáticas específicas da beta, urease, fosfatase ácida e alcalina por unidade de carbono orgânico total (COT) adquiriram aumento significativo nos tratamentos EBC 4 e 8, ECC12, ECC4, EBC8, respectivamente. Entretanto, a atividade de hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) não apresentou aumento significativo em relação às médias avaliadas.

O efeito do biochar na atividade enzimática específica da hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA), betaglucosidade (BETA), uréase (URE) e a fosfatase alcalina (Fal) por unidade de carbono da biomassa microbiana (CBM) obteve aumento significativo no tratamento EBC4, EBC8 e 12 e ECC16, EBC4 e 8 e ECC16, EBC8 e ECC16, respectivamente. As atividades enzimáticas específicas da fosfatase ácida (Fac) não adquiriram aumento significativo em relação às médias avaliadas nos diferentes biochar (Tabela 3).

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

**Tabela 3:** Atividades enzimáticas específicas por unidade de carbono orgânico do solo (COT) e por unidade de carbono da biomassa microbiana (CBM) em solo arenoso com biochar cultivado com milho.

	EBC					Regressão	ECC					Regressão
	0	4	8	12	16		0	4	8	12	16	
FDA/COT	0,27aAB	0,20aB	0,22aB	0,23aB	0,35aA	$y = 0,025x^2 - 0,1304x + 0,3715 R^2 = 0,94$	0,27aA	0,21aA	0,26aA	0,22aA	0,24aA	$y = 0,0038x^2 - 0,026x + 0,2792 R^2 < 0,7$
BETA/COT	0,25aAB	0,28aA	0,23aAB	0,21aBC	0,18aC	$y = -0,0066x^2 + 0,0186x + 0,2493 R^2 = 0,82$	0,25aA	0,11bC	0,16bBC	0,20aAB	0,18aAB	$y = 0,0165x^2 - 0,1025x + 0,3102 R^2 = 0,7$
URE/COT	1,43aA	1,32aA	1,62aA	1,41bA	0,71aA	$y = -0,1193x^2 + 0,5793x + 0,8722 R^2 = 0,80$	1,43aA	0,72aA	1,37aA	2,01aA	1,59aA	$y = 0,04x^2 - 0,0789x + 1,2271 R^2 < 0,7$
Fac/COT	4,75aA	2,26bB	1,59aB	1,22aB	3,72aA	$y = 0,7348x^2 - 4,7181x + 8,7859 R^2 = 0,96$	4,75aA	5,48aA	2,11aB	1,23aB	1,39aB	$y = 0,0964x^2 - 1,6776x + 6,9678 R^2 = 0,77$
Falc/COT	1,44aC	3,91aAB	4,71aA	2,16aBC	1,50aC	$y = -0,6862x^2 + 3,9537x - 1,5652 R^2 = 0,77$	1,44aA	2,91aA	1,51bA	1,66aA	2,64aA	$y = 0,0403x^2 - 0,1272x + 1,974 R^2 < 0,7$
	EBC						ECC					
	0	4	8	12	16	Regressão	0	4	8	12	16	Regressão
FDA/CBM	0,37aA	0,39aA	0,35aAB	0,24aB	0,27aAB	$y = -0,0028x^2 - 0,0186x + 0,4145 R^2 = 0,73$	0,37aA	0,28bAB	0,30aAB	0,17aB	0,34aA	$y = 0,0275x^2 - 0,1822x + 0,54 R^2 < 0,7$
BETA/CBM	0,35aA	0,35aA	0,47aA	0,21aB	0,14bB	$y = -0,0372x^2 + 0,167x + 0,2174 R^2 = 0,77$	0,35aA	0,15bBC	0,20bBC	0,12bC	0,26aAB	$y = 0,0389x^2 - 0,2546x + 0,556 R^2 = 0,77$
URE/CBM	0,02aAB	0,02aAB	0,028aA	0,014aBC	0,005bC	$y = -0,0028x^2 + 0,0133x + 0,009 R^2 = 0,85$	0,02aA	0,01bB	0,02bAB	0,01aAB	0,02aA	$y = 0,0022x^2 - 0,0118x + 0,0289 R^2 = 0,7$
Fac/CBM	0,06aA	0,04aAB	0,02aB	0,01aB	0,02aB	$y = 0,0049x^2 - 0,0411x + 0,1045 R^2 = 0,99$	0,06aA	0,06aA	0,02aB	0,01aB	0,02aB	$y = 0,0044x^2 - 0,0397x + 0,109 R^2 = 0,83$
Falc/CBM	0,02aBC	0,04aB	0,09aA	0,02aC	0,008bC	$y = -0,0141x^2 + 0,0787x - 0,0409 R^2 < 0,7$	0,02aAB	0,04aA	0,02bAB	0,009aB	0,04aA	$y = 0,003x^2 - 0,0184x + 0,0488 R^2 = 0,7$

<sup>1</sup> submetido para publicação, <sup>2</sup>A ser submetido para publicação

## 5.4 Discussão

### 5.4.1 Crescimento de feijão utilizando biochar

O biochar adicionado ao solo não permitiu diferença estatística significativa para a variável altura da planta, no entanto observando a figura 1A nota-se um leve aumento da mesma para dose 4 Mg ha<sup>-1</sup> de EBC. Este aumento pode ser atribuído ao benefício da adição do substrato (borra de café) que libera os nutrientes ao solo e também pode esta relacionada à forte propriedade de adsorção do biocarvão, que favorece a disponibilidade de nutrientes para a planta (HUPFAUF et al., 2016). Outro fator que pode influenciar no crescimento da planta é a capacidade de retenção de água no solo (DEENIK et al., 2010) e no presente estudo verificou-se que o biochar de borra de café apresenta a capacidade de aumentar a retenção de água no solo (LIMA et al., 2018).

O aumento do diâmetro da planta também está ligado aos mesmos prováveis fatores de aumento da altura da planta. O substrato não apresentou um efeito positivo no diâmetro, isso pode está ligado ao tempo do experimento ou da concentração da dose do biochar, por não serem adequados para apresentar algum efeito nessa característica (LEHMANN et al., 2011).

Upadhyay et al. (2014), analisando o efeito do biochar obtido através de resíduos verdes no crescimento de culturas. Em seus estudos observaram que a aplicação de biochar é benéfico para a altura da planta após 4 semanas, quando as plantas precisam mais nutrientes à medida que começam a crescer vigorosamente. Desta forma, esses resultados colaboram com os resultados obtidos neste presente estudo.

O substrato de resíduo de café incorporado ao solo não apresentou uma resposta positiva na variável massa seca da parte aérea. Na maioria das vezes, o biochar não apresenta logo de início um rendimento na produção vegetal, mas pode acontecer de causar efeito positivo ou nulo nas respostas fisiológica da planta (BIEDERMAN; HARPOLE, 2013).

Foster et al. (2016) analisando o impacto de biochar e adubo sobre os nutrientes do solo e as atividades enzimáticas microbianas em um sistema de cultivo milho, observaram que a matéria seca não obteve um bom rendimento, afirmando que precisaria de um período mais longo para ter uma melhor definição sobre a influencia do biochar em rendimentos de milho envolvendo o presente trabalho.

#### 5.4.2 Características químicas do solo após o experimento

O biochar possui o potencial para melhorar a qualidade do solo, aumentando as capacidades de troca de ânions e cátions, área de superfície, capacidade de retenção de água e afetando a biodisponibilidade de nutrientes, incluindo fósforo (P), cálcio (Ca) e nitrogênio (N) isso varia com suas propriedades e a reatividade no solo (CHINTALA et al., 2014). A adsorção de cátions e o aumento do pH, são os principais fatores responsáveis pelo aumento de retenção de nutrientes em solos modificados com biochar (HUSSAIN et al., 2016).

A concentração de P disponível aumentaria após a adição de biochar, porque o P solúvel abundante foi formado durante o processo da queima da biomassa, e pode ser liberado quando o biochar foi adicionado ao solo. Estudos relatam que o biocarvão pode aumentar a disponibilidade de P através de adsorção superficial e também aumentando o pH e a CTC de solo (YANG et al., 2017).

Resultados similares foram observados por Colantoni et al. (2016), analisando a caracterização de biochars produzidos a partir de resíduos agrícolas granulados, onde observou um aumento de dois elementos, o fósforo e o potássio. Ele afirma também que a pirólise influencia fortemente nas concentrações dos principais elementos da química do solo.

#### 5.4.3 Carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana

O biochar de café adicionado ao solo arenoso apresentou um aumento positivo nos tratamentos com as maiores doses EBC16 e ECC16, esta influência deve ter ocorrido provavelmente porque com elevadas doses de biochar a quantidade de carbono estável aumenta, fazendo com que o armazenamento de COT seja maior, melhorando a estrutura do solo (SOHI et al., 2010). A parte estabilizada do carbono orgânico total é bastante suscetível a decomposição microbiana (YANG et al., 2017), mas, através de uma possível combinação entre proteção física e complexação química, o carbono estável pode ter sido protegido contra a decomposição (HARTLEY et al., 2016).

Resultados observados por Hartley et al. (2016) foi consistente com o presente estudo, onde observou que utilizando o biochar de madeira em solos arenosos, verificou que o substrato analisado melhorou a estrutura do solo e aumentou o carbono orgânico total, os autores afirmam que este aumento é devido à estabilidade dos componentes

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão estruturais do solo que melhora através da aplicação do biochar interagindo com minerais presentes do solo.

A aplicação do biochar de café ao solo arenoso mostrou um efeito positivo para o carbono da biomassa microbiana nos tratamentos EBC16 e ECC12, isso porque o biochar é muito rico em C, que é responsável por fornecer o C orgânico lábil sendo importante para utilização e crescimento microbiano (DEMISIE et al., 2014) mesmo que o biochar ofereça resistência na decomposição microbiana devido à baixa polaridade e a alta aromaticidade (ZHAO et al., 2013). Outro fator responsável pelo aumento da biomassa microbiana é a grande área de superfície do biochar que oferece micro-habitat favorável para comunidades microbianas (IPPOLITO et al., 2014).

Khadem; Raiesi (2017) analisando as respostas do desempenho microbiano ao adicionar biochar de milho em solos calcários arenosos e argilosos, encontraram um aumento significativo da biomassa microbiana em ambos tipos de solos, obtendo melhor resultado em solos arenosos. O autor atribuiu o aumento a maior disponibilidade de MOS e substrato ou de maior quantidade de matéria volátil, ou seja, de C lábil.

#### 5.4.4 Atividade da enzima absoluta

A aplicação de biochar de café no solo arenoso cultivado com milho alterou a atividade microbiana (FDA) que é responsável pela caracterização e quantificação da atividade microbiana (JIANG et al., 2016). Altas doses de biochar aumenta o teor de matéria orgânica, influenciando diretamente a comunidade microbiana (BERA et al., 2016).

Outros estudos utilizando o biochar de casca de amendoim observou-se também um aumento na hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA), devido ao efeito osmótico sobre a microflora do solo (BHADURI et al., 2016). Da mesma forma Sarma et al. (2017) observaram aumentos de FDA em solo de textura argilo arenoso. Esses autores afirmam que isso deve ter ocorrido pela aplicação de biochar que contribuiu para o aumento da matéria orgânica que está ligado à atividade da FDA.

Os dois biochars (EBC e ECC) apresentaram comportamento diferente quanto à atividade da beta-glucosidase que está associada à mineralização do C presente no solo e é dependente da diminuição de fenóis solúveis (DEMISIE et al., 2016). Ao adicionar biochar no solo, a concentração de fenóis diminui, (LEHMANN et al., 2011; XU et al., 2012) aumentando a atividade da beta-glucosidase. Neste estudo, as doses crescentes de biochar

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão  
de borra de café aumentou a atividade desta enzima, porém não ocorreu o mesmo para o biochar de casca de café.

Resultados observados por Luo e Guo (2016) verificando a alteração da atividade da beta-glucosidase utilizando biochar produzido a partir de resíduos de bambu, afirmam que isso pode ter acontecido devido as mudanças ocorridas com a adição do biocarvão nas características do solo, pH, materiais fenólicos solúveis e disponibilidade de nutrientes, que levou, provavelmente, a alterações da comunidade microbiana e das atividades enzimáticas.

A hidrólise da ureia promovida pela urease pode refletir nos processos microbianos do solo e alterar a capacidade de N disponível no solo (NANNIPIERI et al., 2012; LUO et al., 2016). Esse aumento da atividade de urease no tratamento ECC12, pode estar relacionado com a proteção da enzima pela sua associação com o biochar, que tem alto peso molecular (JINDO et al., 2012; BERA et al., 2016). Neste sentido, o esterco orgânico, que é rico em enzimas, fornece nutrição e ambiente para o crescimento de microorganismos e a produção de enzimas (SHAO e ZHENG, 2014) e quando o biochar está associado a compostos nitrogenados, a estimulação do crescimento ocorre de maneira sinérgica (ATKINSON et al., 2010).

Resultados semelhantes, em que a atividade enzimática da urease foi mais acentuada em doses crescente de biochar, foram observados por Wang et al. (2015) que estudaram a taxa de adição de biochars, produzido a partir de palha de milho, que influencia a atividade enzimática e a comunidade microbiana do solo, este aumento esta relacionado ao substrato que apresenta compostos orgânicos e inorgânicos e possivelmente afetam as enzimas que são relacionadas ao N.

A enzima fosfatase é envolvida no ciclo do fosfato e são particularmente conhecidas por apresentarem uma resposta rápida ao manejo do solo (AL MARZOOQI; YOUSEF, 2017). Este aumento pode está relacionado devido às interações físico-químicas do biochar com a enzima do solo e a quantidade da atividade vai depender do pH do solo (ELZOB AIR et al., 2016a).

Jindo et al. (2012) analisando a caracterização química e bioquímica de compostos misturados com biochar preparados a partir de esterco de aves, verificou um aumento na atividade enzimática fosfatase, e afirmam que este acréscimo é devido a proteção desta enzima por sua associação com complexos orgânicos de elevado peso molecular.

Estudos realizados por Bailey et al. (2011); Elzobair et al. (2016b), demonstram que ao aumentar as doses de biochar a atividade da enzima fosfatase alcalina é reduzida. Esse



Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão  
decréscimo da atividade da enzima está relacionado com a forte propriedade de adsorção do biochar que acaba adsorvendo substratos ou enzimas, inibindo a capacidade catalítica da enzima. Outro fator é o aumento do pH causado pela alta concentração de biochar (CHINTALA et al., 2014). Acredita-se que o aumento da atividade da fosfatase alcalina em doses menores de biochar, pode ser devido aos poros no biochar e a disponibilidade de nutrientes que melhora a absorção de P.

Resultados da fosfatase alcalina corroboram com os observados por Huang et al. (2017) verificando os efeitos do biochar de palha de arroz na comunidade microbiana e na atividade enzimática em sedimentos contaminados com metais pesados. A adição do biocarvão ao solo em baixo nível de concentração promove um aumento na fosfatase alcalina que também estão associados ao ciclo de P que o substrato é capaz de disponibilizar.

#### 5.4.5 Atividades enzimáticas específicas por unidade de carbono orgânico total e carbono da biomassa microbiana.

O biochar de café adicinado ao solo teve uma consequência positiva nas enzimas específicas por COT, que está relacionado com a diminuição do teor de C e a perda de matéria orgânica mais instável. Tal perda ocorre devido ao fato dela ser não humificada e a fração humificada acaba permanecendo. A fração humificada possui enzimas que são ligadas a colóides húmicos do solo, resultando no aumento da atividade enzimática específica (TRASAR-CEPEDA et al., 2008.; RAIESI; BEHESHTI, 2014).

Esse aumento da atividade enzimática por CBM resulta provavelmente da liberação de enzimas que ficam presas dentro de agregados do solo ou de maior quantidade de substrato disponível para a atividade da enzima (BASTIDA et al., 2008; RAIESI e BEHESHTI, 2014) e maior atividade metabólica desempenhada por micro-organismos presentes no solo (LAGOMARSINO et al., 2011). Dessa forma, esta relação é utilizada como instrumento para identificar o estado metabólico de micro-organismos no solo e a oscilação das atividades enzimáticas que foram estabilizadas (MEDEIROS et al., 2017).

## 5.5 Conclusão

A aplicação de doses crescente dos biochar da biomassa da borra do café e casca do café melhorou a atividade microbiológica do solo, como também as características agrônômicas de crescimento da cultura do milho para reduzir a emissão de  $\text{CO}_2$  sem causar variações no CBM e sem promover impactos negativos sobre a atividade enzimática do solo.

O biocarvão provenientes de resíduos de café incorporado ao solo incrementou de forma geral os atributos químicos, físicos, microbianos e bioquímicos de solo arenoso cultivado com milho. Recomenda-se o aproveitamento de resíduos da indústria de café para a produção do biochar e aplicação na cultura do milho em doses a partir de  $16 \text{ Mg ha}^{-1}$ .

## **6 CONSIDERAÇÕES GERAIS**

1. O uso de biochar de resíduos de café (BC e CC) promoveram mudanças nos parâmetros COT, CBM, FDA,URE, FALC, FALC/COT e por CBM avaliados na cultura do feijão e milho.
2. Os resíduos do café de (BC ou CC), em grande parte nas maiores doses (12 e 16 Mg ha<sup>-1</sup>) promoveram alterações na qualidade química, bioquímica e na microbiológica do solo.
3. O biochar de café aplicado a solo arenoso foi eficiente no crescimento do feijão, sendo mais expressivo nas doses mais elevadas. Já, para o crescimento da cultura do milho obteve um leve aumento, mas não significativo. No entanto, são necessária mais estudos com doses mais elevadas para confirma tal resultado.
4. Recomenda-se o proveito de resíduos da indústria de café para a produção do biochar e aplicação na cultura do milho em doses a partir de 16 Mg ha<sup>-1</sup>.
5. Espera-se que os resultados dos ensaios destas pesquisas, possam evidenciar a importância do uso de biochar na agricultura como pratica conservacionista, condicionador do solo e promotor de melhorias na qualidade do solo em cultivo do feijão e do milho.

## REFERÊNCIAS

- Abujabhah, I. S., Bound, S. A., Doyle, R., Bowman, J. P. 2016. Effects of biochar and compost amendments on soil physico-chemical properties and the total community within a temperate agricultural soil. *Applied Soil Ecology*, v. 98, p. 243-253.
- Acosta-Martínez, V., Zobeck, T. M., Gill, T. E., Kennedy, A. C. 2003. Enzyme activities and microbial community structure in semiarid agricultural soils. *Biology and Fertility of soils*, v. 38, p. 216-227.
- Al marzooqi, F., Yousef, L. F. 2017. Biological response of a sandy soil treated with biochar derived from a halophyte (*Salicornia bigelovii*). *Applied Soil Ecology*, v. 114, p. 9-15.
- Assis, A. M., Unemoto, L. K., Yamamoto, L. Y., Lone, A. B., de Souza, G. R. B., de Faria, R. T., Takahashi, L. S. A. 2011. Cultivo de orquídea em substratos à base de casca de café. *Bragantia*, v. 70, p. 544-549.
- Atkinson, C. J., Fitzgerald, J. D., Hipps, N.A. 2010. Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: a review. *Plant and soil*, v. 337, p. 1-18.
- Baggio, J. 2006. Avaliação dos resíduos (casca e pó orgânico) de café (*Coffea arabica* L.) como provável fonte de substâncias bioativas.
- Bailey, V. L., Fansler, S. J., Smith, J. L., Bolton, H. 2011. Reconciling apparent variability in effects of biochar amendment on soil enzyme activities by assay optimization. *Soil Biology and Biochemistry*, v.43, p. 296-301.
- Balota, E. L., Chaves, J. C. D. 2011. Microbial Activity in Soil Cultivated with Different Summer Legumes in Coffee Crop. *Braz. Arch. Biol. Technol.* v. 54, p. 35-44.
- Balota, E. L.; Machineski, O.; Truber, P. V.; Auler, P. A. M. 2011. Effect of Tillage Systems and Permanent Groundcover Intercropped with Orange Trees on Soil Enzyme Activities. *Braz. Arch. Biol. Technol.* v. 54, p. 221-228.
- Barroso, A. A. M.; Yamauti, M. S.; Alves, P. L. C. A. 2010. Interferência entre espécies de planta daninha e duas cultivares de feijoeiro em duas épocas de semeadura. *bragantia*, Campinas, v. 69, p. 609-616.
- Bartlett, R. J., ROSS, D. S. 1988. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions. *Soil Science Society American Journal*, Madison v.52, p. 191-192.
- Bastida, F., Zsolnay, A., Hernández, T., García, C. 2008. Past, present and future of soil quality indices: a biological perspective. *Geoderma*, v.147, p. 159-171.

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

- Baum, E., Weitner, S. Biochar application on soils and cellulosic ethanol production. Clean Air Task Force, Washington, p. 21, 2006.
- Behera, B. C., Yadav, H., Singh, S. K., Mishra, R. R., Sethi, B. K., Dutta, S. K., Thatoi, H. N. Phosphate solubilization and acid phosphatase activity of *Serratia* sp. isolated from mangrove soil of Mahanadi river delta, Odisha, India. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 2017.
- Benevides, C. D. J., Souza, R. D. B., Souza, M., Silva, M. 2010. Efeito do processamento sobre os teores de oxalato e tanino em maxixe (*Cucumis anguria* L.), JILÓ (*Solanum gilo*), feijão verde (*Vigna unguiculata* (L.) E feijão andu (*Cajanus cajan* (L.) Mill SP) Effect of processing on oxalate and tannin.. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v. 24, p. 328.
- Bera, T., Collins, H. P., Alva, A. K., Purakayastha, T. J., Patra, A. K. 2016. Biochar and manure effluent effects on soil biochemical properties under corn production. *Applied Soil Ecology*, v. 107, p. 360-367.
- Bhaduri, D., Saha, A., Desai, D., Meena, H. N. 2016. Restoration of carbon and microbial activity in salt-induced soil by application of peanut shell biochar during short-term incubation study. *Chemosphere*, v. 148, p. 86-98.
- Biederman, L. A., Harpole, W. S. 2013. Biochar and its effects on plant productivity and nutrient cycling: a meta-analysis. *GCB bioenergy*, v. 5, p. 202-214.
- Biederman, L. A., Phelps, J., Ross, B. J., Polzin, M., Harpole, W. S. 2017. Biochar and manure alter few aspects of prairie development: A field test. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 236, p. 78-87.
- Bird, M. I., McBeath, A. V., Ascough, P. L., Levchenko, V. A., Wurster, C. M., Munksgaard, N. C., Williams, A. 2017. Loss and gain of carbon during char degradation. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 106, p. 80-89.
- Borchard, N., Siemens, J., Ladd, B., Möller, A., Amelung, W. 2014. Application of biochars to sandy and silty soil failed to increase maize yield under common agricultural practice. *Soil and Tillage Research*, v. 144, p. 184-194.
- Brigide, P., Ataide, T. D. R., Canniatti-Brazaca, S. G., Baptista, A. S., Abdalla, A. L., Nascimento Filho, V. F., Santana, A. E. 2014. Iron bioavailability of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) intrinsically labeled with <sup>59</sup>Fe. *Journal of trace elements in medicine and biology*, v. 28, p. 260-265.
- Butnan, S., Deenik, J. L., Toomsan, B., Antal, M. J., Vityakona, P. 2015. Biochar characteristics and application rates affecting corn growth and properties of soils contrasting in texture and mineralogy. *Geoderma*. v. 237, p.105–116.

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

- Campolina, J.M., Cândido, J S., Patto, M. A. R., Lima, J. L. 2008. Estabilidade de produção de híbridos simples e duplos de milho oriundos de um mesmo conjunto gênico. *Bragantia*, v. 67, p. 627-631.
- Carvalho, H. W. L., Cardoso, M. J., Rocha, L. M. P., Pacheco, C. A. P., Oliveira, I. R., Tabosa, J., Simplício, J. B. 2009. Avaliação de híbridos de milho no Nordeste brasileiro: ensaios realizados no ano agrícola 2008. Embrapa Tabuleiros Costeiros-Comunicado Técnico (INFOTECA-E).
- Carvalho, H. W. L., Cardoso, M. J., Oliveira, I. R., Pacheco, C., Tabosa, J. N., Lira, M. A., Melo, K. D. O. 2011. Adaptabilidade e estabilidade de milho no Nordeste brasileiro. Embrapa Meio-Norte-Artigo em periódico indexado (ALICE).
- Castro, R. J. S., Cason, V. G., Sato, H. H. 2017. Binary mixture of proteases increases the antioxidant properties of white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein-derived peptides obtained by enzymatic hydrolysis. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, v. 10, p. 291-297.
- Cha, J. S., Park, S. H., Jung, S. C., Ryu, C., Jeon, J. K., Shin, M. C., Park, Y. K. 2016. Production and utilization of biochar: a review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 40, p.1-15.
- Chan, K. Y., Van Zwieten, L., Meszaros, I., Downie, A., Joseph, S. 2008. Using poultry litter biochars as soil amendments. *Soil Research*, v. 46, p. 437-444.
- Chen, J., Li, S., Liang, C., Xu, Q., Li, Y., Qin, H., Fuhrmann, J. J. 2017. Response of microbial community structure and function to short-term biochar amendment in an intensively managed bamboo (*Phyllostachys praecox*) plantation soil: effect of particle size and addition rate. *Science of The Total Environment*, v.574, p. 24-33.
- Chen, J., Liu, X., Zheng, J., Zhang, B., Lu, H., Chi, Z., Wang, J. 2013. Biochar soil amendment increased bacterial but decreased fungal gene abundance with shifts in community structure in a slightly acid rice paddy from Southwest China. *Applied Soil Ecology*, v. 71, p. 33-44.
- Chen, W. D., Hoitink, H. A., Schmitthenner, A. F., Tuovinen, O. H. 1988. The role of microbial activity in suppression of damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology (USA)*. v.78, p.314-322.
- Chintala, R., Schumacher, T. E., Kumar, S., Malo, D. D., Rice, J. A., Bleakley, B., Gu, Z. R. 2014. Molecular characterization of biochars and their influence on microbiological properties of soil. *Journal of hazardous materials*, v. 279, p. 244-256.

- Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão
- COAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Levantamento de safra. Disponível em <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&ordem=M%EAs/Ano%20da%20publica%E7%E3o>>. Acesso 24 de jun. 2017.
- Colantoni, A., Evic, N., Lord, R., Retschitzegger, S., Proto, A. R., Gallucci, F., Monarca, D. 2016. Characterization of biochars produced from pyrolysis of pelletized agricultural residues. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 64, p. 187-194.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB): acompanhamento da safra brasileira de grãos 2016/17. Brasília; 2016. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_10\\_07\\_09\\_33\\_35\\_safra\\_outubro\\_1.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_10_07_09_33_35_safra_outubro_1.pdf)>. Acesso em: 7 de junho de 2017.
- Costa, M. S., Costa, Z. V. B., Alves, S. M. C., Neto, M. F., Marinho, M. J. C. 2012. Avaliação nutricional do milho cultivado com diferentes doses de efluente doméstico tratado. *Irriga*, v. 1, p. 12- 26.
- Dalchiavon, F. C., Carvalho, M. P., Freddi, O. S., Andreotti, M., Montanari, R. 2011. Variabilidade espacial da produtividade do feijoeiro correlacionada com atributos químicos de um Latossolo Vermelho Distroférico sob sistema de semeadura direta. *Bragantia*, Campinas, v. 70, p.908-916.
- Deenik, J. L., McClellan, T., Uehara, G., Antal, M. J., Campbell, S. 2010. Charcoal volatile matter content influences plant growth and soil nitrogen transformations. *Soil Science Society of America Journal*, v.74, p. 1259-1270.
- Demiate, I. M., Figueroa, A. M., Guidolin, M. E. B. Z., Santos, T. P. R., Yangcheng, H., Chang, F., Jane, J. L. 2016. Physicochemical characterization of starches from dry beans cultivated in Brazil. *Food Hydrocolloids*, v. 61, p. 812-820.
- Demisie, W., Liu, Z., Zhang, M. 2014. Effect of biochar on carbon fractions and enzyme activity of red soil. *Catena*. v. 121, p. 214–221.
- Demontiêzo, F. L. L., Aragão, M. F., Júnior, M. V., Paiva, P. V. V., Lima, S. C. R. V. 2016. Emergência e crescimento inicial de tomate ‘santa clara’ em função da salinidade e condições de preparo das sementes. *Irriga*, v. 1, p. 81-92.
- Domingues, A. M., Silva, E., Freitas, G., Ganança, J. F., Nóbrega, H., Slaski, J. J., Carvalho, M. A. P. 2013. Aluminium tolerance in bean traditional cultivars from Madeira. *Revista de Ciências Agrárias*, v.36, p.148-156.
- Durenkamp, M., Pawlett, M., Ritz, K., Harris, J. A., Neal, A. L., McGrath, S. P. 2016. Nanoparticles within WWTP sludges have minimal impact on leachate quality and soil microbial community structure and function. *Environmental Pollution*, v. 211, p. 399-405.

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

- Eivazi, F., Tabatabai, M. A. 1977. Phosphatases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 9, p. 167-172.
- Eivazi, F., Tabatabai, M. A. 1988. Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 20, p. 601-606.
- Elzobair, K. A., Stromberger, M. E., Ippolito, J. A. 2016b. Stabilizing effect of biochar on soil extracellular enzymes after a denaturing stress. *Chemosphere*, v. 142, p. 114-119.
- Elzobair, K. A., Stromberger, M. E., Ippolito, J. A., Lentz, R. D. 2016a. Contrasting effects of biochar versus manure on soil microbial communities and enzyme activities in an Aridisol. *Chemosphere*, v. 142, p. 145-152.
- EMBRAPA. Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes. Brasília DF: Embrapa. 2º Ed., p. 627, 2009.
- Ennis, C. J., Evans, A. G., Islam, M., Ralebitso-Senior, T. K., Senior, E. 2012. Biochar: carbon sequestration, land remediation, and impacts on soil microbiology. *Critical reviews in environmental science and technology*, v. 42, p. 2311-2364.
- Evangelho, J. A., Vanier, N. L., Pinto, V. Z., Berrios, J. J., Dias, A. R. G., Rosa Zavareze, E. 2017. Black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein hydrolysates: Physicochemical and functional properties. *Food chemistry*, v. 214, p. 460-467.
- Fan, G., Beta, T. 2017. Discrimination of geographical origin of Napirira bean (*Phaseolus vulgaris* L.) based on phenolic profiles and antioxidant activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 62, p. 217-222.
- FAO . Food and agriculture organization of the United Nations. In: FAO statistical data bases, 2014. Disponível em: <http://faostat.fao.org/>. Acesso em: 07 de julho de 2017.
- FAOSTAT- Food And Agriculture Organization Of The United Nations. Production quantities of Coffee, green by country. 2014. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Acesso em: 25/04/2017.
- Farhangi-Abriz, S., Torabian, S. 2017. Antioxidant enzyme and osmotic adjustment changes in bean seedlings as affected by biochar under salt stress. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 137, p. 64-70.
- Foster, E. J., Hansen, N., Wallenstein, M., Cotrufo, M. F. 2016. Biochar and manure amendments impact soil nutrients and microbial enzymatic activities in a semi-arid irrigated maize cropping system. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 233, p. 404-414.
- Freire Filho, F. R. Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios. Embrapa meio-norte-livro científico (ALICE), 2011.



Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

- Galinato, S. P., Yoder, J. K., Granatstein, D. 2011. The economic value of biochar in crop production and carbon sequestration. *Energy Policy*, v. 39, p. 6344-6350.
- Galvão, J. C. C., Miranda, G. V., Trogello, E., Fritsche-Neto, R. 2014. Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. *Rev. Ceres, Viçosa*, v. 61, p. 819-828.
- Gascó, G., Paz-Ferreiro, J., Cely, P., Plaza, C., Méndez, A. 2016. Influence of pig manure and its biochar on soil CO<sub>2</sub> emissions and soil enzymes. *Ecological Engineering*, v. 95, p.19-24.
- Gianfreda, L., Rao, M. A. 2014. *Enzymes in agricultural sciences*. OMICS Group International, 155p.
- Gonzales, P. F., Bicudo, S. J., Moraes-Dallaqua, M. A., Tanamati, F. Y., Aguiar, E. B. 2014. Componentes de produção e morfologia de raízes de mandioca sob diferentes preparos do solo. *Bragantia*, v. 73, p.357-364.
- Green, V. S., Stott, D. E., Diack, M. 2006. Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: optimization for soil samples. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 38, p. 693-701.
- Hartley, W., Riby, P., Waterson, J. 2016. Effects of three different biochars on aggregate stability, organic carbon mobility and micronutrient bioavailability. *Journal of environmental management*, v. 181, p. 770-778.
- He, L. L., Zhong, Z. K., Yang, H. M. 2017. Effects on soil quality of biochar and straw amendment in conjunction with chemical fertilizers. *Journal of Integrative Agriculture*, v. 16, p. 704-712.
- Hossain, M. K., Strezov, V., Chan, K. Y., Ziolkowski, A., Nelson, P. F. 2011. Influence of pyrolysis temperature on production and nutrient properties of wastewater sludge biochar. *Journal of Environmental Management*, v. 92, p. 223-228.
- Huang, D., Liu, L., Zeng, G., Xu, P., Huang, C., Deng, L., Wan, J. 2017. The effects of rice straw biochar on indigenous microbial community and enzymes activity in heavy metal-contaminated sediment. *Chemosphere*, v. 174, p. 545-553.
- Hung, C. Y., Tsai, W. T., Chen, J. W., Lin, Y. Q., Chang, Y. M. 2017. Characterization of biochar prepared from biogas digestate. *Waste Management*, v. 66, p. 53-60.
- Hupfau, B., Hämmerle, T., Lepuschitz, M. 2016. Plant growth tests and the issue of the analysis of PAHs with biochar from gasifier plants. *Energy Procedia*, v. 93, p. 9-13.
- Hussain, M., Farooq, M., Nawaz, A., Al-Sadi, A. M., Solaiman, Z. M., Alghamdi, S. S. Siddique, K. H. 2017. Biochar for crop production: potential benefits and risks. *Journal of Soils and Sediments*, v.17, p. 685-716.

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, 2015. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/imprensa/ppts>. Acesso em: 01 de julho de 2017.

Ippolito, J. A., Stromberger, M. E., Lentz, R. D., Dungan, R. S. 2014. Hardwood biochar influences calcareous soil physicochemical and microbiological status. *Journal of environmental quality*, v. 43, p. 681-689.

Jain, S., Mishra, D., Khare, P., Yadav, V., Deshmukh, Y., Meena, A. 2016. Impact of biochar amendment on enzymatic resilience properties of mine spoils. *Science of The Total Environment*, v. 544, p. 410-421.

Jiang, S., Huang, J., Lu, H., Liu, J., Yan, C. 2016. Optimisation for assay of fluorescein diacetate hydrolytic activity as a sensitive tool to evaluate impacts of pollutants and nutrients on microbial activity in coastal sediments. *Marine pollution bulletin*, v.110, p.424-431.

Jin, Y., Liang, X., He, M., Liu, Y., Tian, G., Shi, J. 2016. Manure biochar influence upon soil properties, phosphorus distribution and phosphatase activities: a microcosm incubation study. *Chemosphere*, v. 142, p. 128-135.

Jindo, K., Suto, K., Matsumoto, K., García, C., Sonoki, T., Sanchez-Monedero, M. A. 2012. Chemical and biochemical characterisation of biochar-blended composts prepared from poultry manure. *Bioresource technology*, v. 110, p. 396-404.

Jones, D. L., Rousk, J., Edwards-Jones, G., DeLuca, T. H., Murphy, D. V. 2012. Biochar-mediated changes in soil quality and plant growth in a three year field trial. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 45, p. 113-124.

Kader, M. A., Yeasmin, S., Solaiman, Z. M., De Neve, S., Sleutel, S. 2017. Response of hydrolytic enzyme activities and nitrogen mineralization to fertilizer and organic matter application in subtropical paddy soils. *European Journal of Soil Biology*, v. 80, p. 27-34.

Kandeler, E., Gerber, H. (1988). Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biology and fertility of Soils*, v. 6, p. 68-72.

Khadem, A., Raiesi, F. 2017. Responses of microbial performance and community to corn biochar in calcareous sandy and clayey soils. *Applied soil ecology*, v. 114, p. 16-27.

Lagomarsino, A., Benedetti, A., Marinari, S., Pompili, L., Moscatelli, M. C., Roggero, P. P., Grego, S. 2011. Soil organic C variability and microbial functions in a Mediterranean agro-forest ecosystem. *Biology and Fertility of Soils*, v.47, p. 283-291.

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

- Lara, N., Figueroa, L., Carvajal, F., Zapata, Y., Urbina, C., Escobar, H. 2013. Quantitative differentiation between soil organic carbon and biochar carbon in Aridisol. *Cien. Inv. Agr.* v. 40, p.387-395.
- Lehmann, J., Kuzyakov, Y., Pan, G., Ok, Y. S. 2015. Biochars and the plant-soil interface. *Plant Soil* , v. 395, p. 1–5.
- Lehmann, J., Rillig, M. C., Thies, J., Masiello, C. A., Hockaday, W. C., Crowley, D. 2011. Biochar effects on soil biota—a review. *Soil biology and biochemistry*, v. 43,p. 1812-1836.
- Li, H., Dong, X., Silva, E. B., Oliveira, L. M., Chen, Y., Ma, L. Q. 2017. Mechanisms of metal sorption by biochars: Biochar characteristics and modifications. *Chemosphere*, v. 178, p. 466-478.
- Liu, S., Meng, J., Jiang, L., Yang, X., Lan, Y., Cheng, X., Chen, W. 2017. Rice husk biochar impacts soil phosphorous availability, phosphatase activities and bacterial community characteristics in three different soil types. *Applied Soil Ecology*, v. 116, p. 12-22.
- Llorach-Massana, P., Lopez-Capel, E., Peña, J., Rieradevall, J., Montero, J. I., Puy, N. 2017. Technical feasibility and carbon footprint of biochar co-production with tomato plant residue. *Waste Management*, p. 1-10.
- Lopes, J. F., Coelho, F. C., Rabello, W. S., Rangel, O. J. P., Amaral Gravina, G., Vieira, H. D. 2016. Produtividade e composição mineral do feijão em resposta às adubações com molibdênio e níquel. *Ceres*, v. 63, p.419-426.
- Lourente, E. R P., Martins, F.M, Estevão, M. M., Ferreira, L. C.S., Alves, C. M.S., Gonçalves, M. C., Gonçalves, M. A. S. 2010. Rotação de culturas e relações com atributos químicos e microbiológicos do solo e produtividade do milho. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 31, p. 829-842.
- Lourente, E. R. P., Martins, F.M., Tokura, A. M. A., Ferreira, C. G., Soares, A.G., MIRANDA, C. N. 2011. Atributos microbiológicos, químicos e físicos de solo sob diferentes sistemas de manejo e condições de cerrado. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 41, p. 20-28.
- Luo, L., Gu, J. D. 2016. Alteration of extracellular enzyme activity and microbial abundance by biochar addition: Implication for carbon sequestration in subtropical mangrove sediment. *Journal of environmental management*, v. 182, p. 29-36.
- Luo, X., Chen, L., Zheng, H., Chang, J., Wang, H., Wang, Z., Xing, B. 2016. Biochar addition reduced net N mineralization of a coastal wetland soil in the Yellow River Delta, China. *Geoderma*, v. 282, p. 120-128.

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

- Luzardo-ocampo, I., Campos-Vegaa, R., Gaytán-Martínez, M., Preciado-Ortíz, R.; Mendoza, S.; Loarca-Piña, G. 2017. Bioaccessibility and antioxidant activity of free phenolic compounds and oligosaccharides from corn (*Zea mays* L.) and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) chips during in vitro gastrointestinal digestion and simulated colonic fermentation. *Food Research International*, p.1-8.
- Mechri, B., Attia, F., Tekaya, M., Cheheb, H., Hammamia, M. 2014. Agronomic application of olive mill wastewaters with rock phosphate increase the 10Me18:0 fatty acid marker of actinomycetes and change rhizosphere microbial functional groups under long-term field conditions. *Soil Biology & Biochemistry*. v. 70, p. 62-65.
- Medeiros, E. V., Duda, G. P., dos Santos, L. A. R., de Sousa Lima, J. R., de Almeida-Cortêz, J. S., Hammecker, C., Cournac, L. 2017. Soil organic carbon, microbial biomass and enzyme activities responses to natural regeneration in a tropical dry region in Northeast Brazil. *Catena*, v. 151, p. 137-146.
- Medeiros, E.V., Notaro, K A., Barros, J.A., Moraes, W.S. Silva, A.O. Moreira, K.A. 2015. Absolute and specific enzymatic activities of sandy entisol from tropical dry forest, monoculture and intercropping areas. *Soil and Tillage Research*, v. 145, p. 208-215.
- Melo, C., Fialho, C., Faria, A., Neto, M., Saraiva, D., Costa, M., Ferreira, L., Ferreira, F. A. 2014. Microbial activity of soil cultivated with corn in association with weeds under different fertility management systems. *Chilean Journal of agricultural research*, v. 74, p.477- 484.
- Melo, F. P., Almeida, J. P. 2013. Análise das feições geomorfológicas e dos processos morfodinâmicos do sítio urbano de Garanhuns-PE. *Revista Ambivalências*, v.1, p. 103-114.
- Mendonça, E. S.; Matos, E. S. *Matéria orgânica do solo: Métodos de análises*. Viçosa: UFV, p.86-92, 2005.
- Meneghelli, C. M., Monaco, P. A. V. L., Haddade, I. R., Meneghelli, L. A. M., Krause, M. R. 2016. Resíduo da secagem dos grãos de café como substrato alternativo em mudas de café Conilon. *Coffee Science*, v. 11, p. 329-334.
- Mingote, R. M., Nogueira, R. A. 2016. The use of statistical methods for censored data to evaluate the activity concentration of Pb-210 in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of environmental radioactivity*, v. 162, p. 160-165.
- Mondal, S., Aikat, K., Halder, G. 2016. Ranitidine hydrochloride sorption onto superheated steam activated biochar derived from mung bean husk in fixed bed column. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 4, p. 488-497.

- Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão
- Mukherjee, A., Zimmerman, A. R. 2013. Organic carbon and nutrient release from a range of laboratory-produced biochars and biochar–soil mixtures. *Geoderma*, v. 193, p. 122-130.
- Nannipieri, P., Giagnoni, L., Renella, G., Puglisi, E., Ceccanti, B., Masciandaro, G., Marinari, S. A. R. A. 2012. Soil enzymology: classical and molecular approaches. *Biology and fertility of soils*, v. 48, p. 743-762.
- Navarrete, A. A., Cannavan, F. S., Taketani, R. G., Tsai, S. M. 2010. A molecular survey of the diversity of microbial communities in different Amazonian agricultural model systems. *Diversity*, v. 2, p. 787-809.
- Novak, J. M., Cantrell, K. B., Watts, D. W., Busscher, W. J., Johnson, M. G. 2014. Designing relevant biochars as soil amendments using lignocellulosic-based and manure-based feedstocks. *Journal of soils and sediments*, v. 14, p. 330-343.
- Novotny, E.H., Azevedo, E.R., Souza, A.A., Song, G., Nogueira, C.M., Mangrich, A.S., Hayes, M.H.B., Madari, B.E., Bonagamba, T. 2009. Lessons from the Terra Preta de Índios of the Amazon Region for the Utilisation of Charcoal for Soil Amendment. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 20, p.1003 - 1010.
- Oleszczuk, P., Joško, I., Futa, B., Pasiieczna-Patkowska, S., Pałys, E., Kraska, P. 2014. Effect of pesticides on microorganisms, enzymatic activity and plant in biochar-amended soil. *Geoderma*. v. 214, p. 10–18.
- Oliveira, J. P. F., Jesus Barreto, M. L., Júnior, D. M. L., Aguiar, E. M., Silva, T. O. 2010. Algarobeira (*Prosopis juliflora*): uma alternativa para alimentação de ovinos no nordeste brasileiro. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 5, p. 01-04.
- Oliveira, P., Nascente, A. S., Kluthcouski, J., Portes ,T. A. 2013. Crescimento e produtividade de milho em função da cultura antecessora. *Pesq. Agropec. Trop.*, Goiânia, v. 43, p. 239-246.
- Padilha, K.M., Freire, M.B.G.S., Duda, G.P., Santos, U.J., Silva, A.O., Souza, E.R. 2014. Indicadores Biológicos de dois solos com a incorporação de subproduto da agroindústria de café. *R. Bras. Ci. Solo*, v.38, p. 1377-1386.
- Park, J. H., Choppala, G. K., Bolan, N. S., Chung, J. W., Chuasavathi, T. 2011. Biochar reduces the bioavailability and phytotoxicity of heavy metals. *Plant and soil*, v. 348, p. 439-451.
- Paz-Ferreiro, J., Gascó, G., Gutiérrez, B., Méndez, A. 2012. Soil biochemical activities and the geometric mean of enzyme activities after application of sewage sludge and sewage sludge biochar to soil. *Biology and fertility of soils*, v.48, p.511-517.

- Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão
- Pereira, H. S., Melo, L. C., Silva, S. C., Peloso, M. J., Faria, L. C., Costa, J. G. C., Wendland, A. 2010. Regionalização de áreas produtoras de feijão comum para recomendação de cultivares no Brasil. Embrapa Arroz e Feijão-Comunicado Técnico (INFOTECA-E).
- Petrović, M., Šoštarić, T., Stojanović, M., Milojković, J., Mihajlović, M., Stanojević, M., Stanković, S. 2016. Removal of Pb 2+ ions by raw corn silk (*Zea mays* L.) as a novel biosorbent. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 58, p. 407-416.
- Prakongkep, N., Gilkes, R. J., Wiriyakitnateekul, W. 2015. Forms and solubility of plant nutrient elements in tropical plant waste biochars. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, v. 178, p. 732-740.
- Prapagdee, S., Tawinteung, N. 2017. Effects of biochar on enhanced nutrient use efficiency of green bean, *Vigna radiata* L. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 10, p. 9460-9467.
- Purakayastha, T. J., Kumari, S., Pathak, H. 2015. Characterization, stability, and microbial effects of four biochars produced from crop residues. *Geoderma* v.239–240, p. 293–303.
- Qu, X., Fu, H., Mao, J., Ran, Y., Zhang, D., Zhu, D. 2016. Chemical and structural properties of dissolved black carbon released from biochars. *Carbon*, v. 96, p. 759-767.
- Raiesi, F., Beheshti, A. 2014. Soil specific enzyme activity shows more clearly soil responses to paddy rice cultivation than absolute enzyme activity in primary forests of northwest Iran. *Applied Soil Ecology*, v. 75, p. 63-70.
- Rakshit, S.; Rashid, Z.; Sekhar, J.C.; Fatma, T.; Dass, S. 2010. Callus induction and whole plant regeneration in elite Indian maize (*Zea mays* L.) inbreds. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* v.100, p.31-37.
- Reed, E. Y., Chadwick, D. R., Hill, P. W., Jones, D. L. 2017. Critical comparison of the impact of biochar and wood ash on soil organic matter cycling and grassland productivity. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 110, p. 134-142.
- Ricciardi, P., Torchia, F., Belloni, E., Lascaro, E., Buratti, C. 2017. Environmental characterisation of coffee chaff, a new recycled material for building applications. *Construction and Building Materials*, v. 147, p. 185-193.
- Santos, J. C. B. D., Souza Júnior, V. S. D., Corrêa, M. M., Ribeiro, M. R., Almeida, M. D. C. D., Borges, L. E. P. 2012. Caracterização de neossolos regolíticos da região semiárida do Estado de Pernambuco. *Revista Brasileira de Ciência do solo*, v. 36, p. 683-696.
- Sarma, B., Borkotoki, B., Narzari, R., Kataki, R., Gogoi, N. 2017. Organic amendments: Effect on carbon mineralization and crop productivity in acidic soil. *Journal of Cleaner Production*, v. 152, p. 157-166.

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

- Saxena, J., Rana, G., Pandey, M. 2013. Impact of addition of biochar along with *Bacillus* sp. on growth and yield of French beans. *Scientia Horticulturae*, v. 162, p. 351-356.
- SEAB – Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento e DERAL – Departamento de Economia. Milho – análise da conjuntura, 2017. Disponível em <<http://www.agricultura.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=240>>. Acesso: 24 de jun. 2017.
- Shao, X., Zheng, J. 2014. Soil organic carbon, black carbon, and enzyme activity under long-term fertilization. *Journal of Integrative Agriculture*, v. 13, p. 517-524.
- Sohi, S. P., Krull, E., Lopez-Capel, E., Bol, R. 2010. A review of biochar and its use and function in soil. *Advances in agronomy*, v. 105, p. 47-82.
- Souza, E.D., Costa, S.E.V.G.A., Anghinoni, I., Lima, C.V.S., Carvalho, P.C.F., Martins, A.P. 2010. Biomassa microbiana do solo em sistema de integração lavoura pecuária em plantio direto, submetido a intensidades de pastejo. *R. Bras. Ci. Solo*, v. 34, p.79-88.
- Souza, J.A., Buzetti, S., Tarsitano, M.A.A., Valderrama, M. 2012. Corn costs and profitability as a function of source, rate and application time of nitrogen. *Rev. Ceres, Viçosa*, v.59 p.321-329.
- Spokas, K. A., Cantrell, K. B., Novak, J. M., Archer, D. W., Ippolito, J. A., Collins, H. P., Lentz, R. D. 2012. Biochar: a synthesis of its agronomic impact beyond carbon sequestration. *Journal of environmental quality*, v. 41, p. 973-989.
- Sun, Z., Bruun, E. W., Arthur, E., de Jonge, L. W., Moldrup, P., Hauggaard-Nielsen, H., Elsgaard, L. 2014. Effect of biochar on aerobic processes, enzyme activity, and crop yields in two sandy loam soils. *Biology and fertility of soils*, v. 50, p. 1087-1097.
- Swaine, M., O'brike, R., Clark, J. M., Shaw, L. J. 2013. Biochar alteration of the sorption of substrates and products in soil enzyme assays. *Applied and Environmental Soil Science*, v. 2013, p. 1-6 .
- Tan, Z., Lin, C. S., Ji, X., Rainey, T. J. 2017. Returning biochar to fields: A review. *Applied Soil Ecology*, v. 116, p. 1-11.
- Tate, K. R., Ross, D. J., Feltham, C. W. 1988. A direct extraction method to estimate soil microbial C: effects of experimental variables and some different calibration procedures. *Soil Biology Biochemistry*, Oxford, v. 20, p.329-335.
- Thies, J.E., Rillig, M.C., 2009. Characteristics of biochar: biological properties. In: Lehmann, J., Joseph, S. (Eds.), *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*. Earthscan, London, pp. 183e205.

- Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão
- Tian, J., Wang, J., Dippold, M., Gao, Y., Blagodatskaya, E., Kuzyakov, Y. 2016. Biochar affects soil organic matter cycling and microbial functions but does not alter microbial community structure in a paddy soil. *Science of the Total Environment*, v. 556, p. 89-97.
- Trasar-cepeda, C., Leirós, M. C., Gil-sotres, F. 2008. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. *Soil Biology And Biochemistry*, [s.l.], v. 40, p.2146-2155,
- Upadhyay, K. P., George, D., Swift, R. S., Galea, V. 2014. The influence of biochar on growth of lettuce and potato. *Journal of Integrative Agriculture*, v. 13, p. 541-546.
- Van Zwieten, L., Kimber, S., Morris, S., Chan, K. Y., Downie, A., Rust, J., Cowie, A. 2010. Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility. *Plant and soil*, v. 327, p. 235-246.
- Vance, E. D., Brooks, P. C., Jenkinson, D. S. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, v.19, p.703-707.
- Vinhal-Freitas, I. C., Corrêa, G. F., Wendling, B., Bobul'Skác, L., Ferreira, A. S. 2017. Soil textural class plays a major role in evaluating the effects of land use on soil quality indicators. *Ecological Indicators*, v. 74, p. 182-190.
- Wang, B., Xue, S., Liu, G. B., Zhang, G. H., Li, G., Ren, Z. P. 2012. Changes in soil nutrient and enzyme activities under different vegetations in the Loess Plateau area, Northwest China. *Catena*, v. 92, p. 186-195.
- Wang, H., Zheng, H., Jiang, Z., Dai, Y., Liu, G., Chen, L., Wang, Z. 2017. Efficacies of biochar and biochar-based amendment on vegetable yield and nitrogen utilization in four consecutive planting seasons. *Science of the Total Environment*, v. 593, p. 124-133.
- Wang, X., Song, D., Liang, G., Zhang, Q., Ai, C., Zhou, W. 2015. Maize biochar addition rate influences soil enzyme activity and microbial community composition in a fluvo-aquic soil. *Applied soil ecology*, v. 96, p. 265-272.
- Xu, N., Tan, G., Wang, H., Gai, X. 2016. Effect of biochar additions to soil on nitrogen leaching, microbial biomass and bacterial community structure. *European Journal of Soil Biology*, v. 74, p. 1-8.
- Xu, S., Zhang, L., Zhou, L., Mi, J., Mclaughlin, N. B., Liu, J. 2016. Effect of synthetic and natural water absorbing soil amendments on soil microbiological parameters under potato production in a semi-arid region. *European Journal of Soil Biology*, v. 75, p. 8-14.
- Xu, T., Lou, L., Luo, L., Cao, R., Duan, D., Chen, Y. 2012. Effect of bamboo biochar on pentachlorophenol leachability and bioavailability in agricultural soil. *Science of the Total Environment*, v. 414, p. 727-731.



Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

- Yang, X., Meng, J., Lan, Y., Chen, W., Yang, T., Yuan, J., Han, J. 2017. Effects of maize stover and its biochar on soil CO<sub>2</sub> emissions and labile organic carbon fractions in Northeast China. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v.240, p. 24-31.
- Yao, Y., Hu, Y., Zhu, Y., Gao, Y., Ren, G. 2016. Comparisons of phaseolin type and  $\alpha$ -amylase inhibitor in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in China. *The Crop Journal*, v. 4, p. 68-72.
- Yeomans, J. C. e Bremner, J. M. 1988. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v.19, p.1467-1476.
- Zhang, M., Cheng, G., Feng, H., Sun, B., Zhao, Y., Chen, H., Zhang, A. 2017. Effects of straw and biochar amendments on aggregate stability, soil organic carbon, and enzyme activities in the Loess Plateau, China. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, p. 10108-10120.
- Zhang, Q. Z., Dijkstra, F. A., Liu, X. R., Wang, Y. D., Huang, J., Lu, N. 2014. Effects of biochar on soil microbial biomass after four years of consecutive application in the north China plain. *PloS one*, v. 9, 102062
- Zhang, T., Zhu, X., Shi, L., Li, J., Li, S., Lü, J., Li, Y. 2017. Efficient removal of lead from solution by celery-derived biochars rich in alkaline minerals. *Bioresource Technology*, v. 235, p. 185-192.
- Zhang, X., Dong, W., Dai, X., Schaeffer, S., Yang, F., Radosevich, M., Sun, X. 2015. Responses of absolute and specific soil enzyme activities to long term additions of organic and mineral fertilizer. *Science of the Total Environment*, v. 536, p. 59-67.
- Zhang, X., Wang, D., Jiang, C.C., Peng, S.A. 2013. Research progress of amelioration effects of biochars on acid soils. *Hubei Agric. Sci.*, v. 52 , p. 997–1000.
- Zhao, L., Cao, X., Mašek, O., Zimmerman, A. 2013. Heterogeneity of biochar properties as a function of feedstock sources and production temperatures. *Journal of hazardous materials*, v. 256, p. 1-9.
- Zheng, A., Zhang, B., Zhou, L., Wang, S. 2016. Application of radio frequency pasteurization to corn (*Zea mays* L.): Heating uniformity improvement and quality stability evaluation. *Journal of Stored Products Research*, v. 68, p. 63-72.
- Zhou, H., Zhang, D., Wang, P., Liu, X., Cheng, K., Li, L., van Zwieten, L. 2017. Changes in microbial biomass and the metabolic quotient with biochar addition to agricultural soils: A Meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 239, p. 80-89.

Pereira Martins Filho, Argemiro - Impacto do biochar de café sobre as atividades enzimáticas e biomassa microbiana em neossolo cultivados com milho e feijão

Zhu, L. X., Xiao, Q., Cheng, H. Y., Shi, B. J., Shen, Y. F., Li, S. Q. 2017. Seasonal dynamics of soil microbial activity after biochar addition in a dryland maize field in North-Western China. *Ecological Engineering*, v. 104, p. 141-149.

Zhu, X., Chen, B., Zhu, L., Xing, B. 2017. Effects and mechanisms of biochar-microbe interactions in soil improvement and pollution remediation: A review. *Environmental Pollution*, v. 227, p. 98-115.