

Atividade Biológica de Solo de Cerrado Adicionado de Resíduo Úmido de Cervejaria e Cultivado com Milho: I. Atividade da Urease e Arginase⁽¹⁾

Bianca Gonçalves Camilo⁽²⁾; Lorena dos Santos Rodrigues⁽²⁾; Fabiana Cristina de Souza⁽²⁾; Jamir Pena Júnior⁽²⁾; Daiane Cristina Diniz Caldeira⁽²⁾; Ivanildo Evódio Marriel⁽³⁾

⁽¹⁾Trabalho executado com recursos de FAPEMIG, CNPq, UNIFEMM e EMBRAPA Milho e Sorgo.

⁽²⁾Acadêmico de Engenharia Ambiental, Centro Universitário de Sete Lagoas – UNIFEMM. Avenida Marechal Castelo Branco, nº 2765 - Bairro Santo Antônio - CEP: 35701-242, Sete Lagoas, MG;

⁽³⁾Engenheiro Agrônomo, Doutor, Professor de Engenharia Ambiental, UNIFEMM e Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo – CNPMS, Rodovia MG 424, km 45 CEP 35.701-970 Sete Lagoas, MG - Brasil

RESUMO: Sete Lagoas tornou-se importante polo da agroindústria cervejeira de Minas Gerais, com produção aproximada de 10 milhões hectolitros cerveja por ano, e gera grande quantidade de coprodutos diversos, que podem tornar-se poluentes no ambiente. Neste estudo, avaliou-se os impactos da aplicação de resíduo úmido de cervejaria sobre a qualidade biológica do solo determinada pela atividade das enzimas urease e arginase. O ensaio foi conduzido em vasos contendo 5 kg de LVd, fase cerrado, em ambiente sob telado. Os tratamentos foram constituídos de cinco doses de resíduos úmido de cervejaria (equivalentes a 0,0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 t ha⁻¹); adubação completa (calagem, macro e micronutriente); e adubação completa com omissão de N associado a 4 t ha⁻¹ de resíduo, distribuídos em delineamento de blocos casualizados, com três repetições. Como resultados, a análise estatística demonstrou que não houve diferença significativa entre os tratamentos para ambas as enzimas utilizadas como bioindicadores, sendo que os valores observados para a atividade da urease foram em torno de 10 vezes superiores aos da arginase. Concluiu-se que a incorporação de resíduo úmido de cerveja ao solo de cerrado, até a dose 4 t ha⁻¹, não promove alterações na qualidade biológica do solo, determinada pelos bioindicadores utilizados.

Palavras-Chave: bagaço de malte, cerveja, enzimas do solo, sustentabilidade.

INTRODUÇÃO

A recente expansão da indústria cervejeira no Brasil confere ao país a terceira posição no mercado mundial. Portanto, esta atividade gera quantidades elevadas de co-produtos com riscos potenciais ao ambiente, se dispostos de maneiras inadequadas. Atualmente, o município de Sete Lagoas constitui polo importante desta agroindústria de Minas Gerais, com produção aproximada de 10 milhões hectolitros cerveja por ano. Durante este processo, cada 1000 litros de matéria prima processada produz entre 1100 a 1300 litros de bagaço de malte

(resíduo úmido de cervejaria - RUC) que representa 85% do total. Este resíduo é gerado na filtração do mosto após a caldeira de mostura, antes da fervura, contendo aproximadamente 80% de umidade e teores elevados de proteína, em torno de 25%, além de outros nutrientes, que o torna valiosa fonte de proteína para raça animal (IAFIGLIOLA, 1998; MEURER et al., 2000; BROCHIER & CARVALHO, 2009; KLAGENBOECH et al., 2011) ou fonte de nitrogênio para fins agrícolas, com possíveis impactos sobre o pool de nitrogênio no solo. Entretanto, são ainda limitadas as informações dos impactos desse subproduto sobre a qualidade do solo, como consequência da disposição inadequada ou da sua utilização como fonte de nutrientes às plantas. Por outro lado, está bem estabelecido na literatura que indicadores microbiológicos são altamente sensíveis para detectar, em curto espaço de tempo, alterações no ambiente causadas por atividades antrópicas (LOPES et al., 2013). Dentre estes bioindicadores, a atividade de enzimas envolvidas na ciclagem biogeoquímica de nutrientes do solo tem sido utilizada com sucesso no monitoramento da qualidade biológica do solo (DICK, 1994; DORAN & ZEISS, 2000; CALAZANS, 2011) que, por sua vez, estão diretamente relacionadas à sustentabilidade de agroecossistemas. O objetivo deste estudo foi avaliar os impactos da aplicação de resíduo úmido de cervejaria sobre a qualidade biológica do solo, determinada pela atividade das enzimas urease e arginase, envolvidas na dinâmica de nitrogênio no solo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido, em ambiente de telado, no campus do Centro Universitário de Sete Lagoas, MG (UNIFEMM) e no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica do Solo da Embrapa Milho e Sorgo, entre os meses de agosto e dezembro de 2012. Utilizou-se amostras de um LATOSSOLO VERMELHO Distrófico, fase cerrado, coletadas profundidade de 0 a 0,20 m. O solo foi seco, destorroado e peneirado. Depois de homogeneizado, a mistura solo – resíduo de

cervejaria foi transferido para vasos de plástico com capacidade para 5,0 dm³ e mantidos com umidade em torno de 70% da capacidade de campo. Antes do plantio, o solo recebeu calagem e adubação química de acordo com os tratamentos e resultados da análise química do solo. Foram deixadas duas plantas de milho por vaso, após o desbaste.

A atividade da urease nas amostras do substrato foi determinada por meio da quantificação de amônio liberado pela hidrólise da uréia utilizando-se o método colorimétrico preconizado por Kandeler e Gerber (1988). Amostras de 0,5 g do substrato foram tratadas com 0,25 mL de solução de uréia (4,8 g L⁻¹) e incubadas por uma hora à 37°C. Após este período, adicionaram-se 5 mL de solução de KCl (1M) em cada amostra, que foi agitada por 30 minutos, à temperatura de 37°C. Em seguida, uma alíquota de 100 µl do sobrenadante de cada amostra foi retirada e misturada a 1,0 mL da solução de reagentes para colorimetria. Após 60 minutos, realizou-se a leitura em espectrofotômetro, a 660 nm.

A atividade da arginase nas amostras do substrato foi determinada por meio da quantificação de amônio liberado pela hidrólise da arginina, utilizando-se o método colorimétrico de Alef e Kleiner (1986). Amostras de 1,0 g do substrato foram tratadas com 0,25 mL de solução de L-arginine (0,2 g/L) e incubadas por uma hora, à 37°C. Em seguida, as amostras foram tratadas com 4 mL de solução de KCl, (1M) e incubadas sob agitação, por 30 minutos. Uma alíquota de 100 µl do sobrenadante de cada amostra foi retirada e misturada a 1,0 mL da solução de reagentes para colorimetria. Após sessenta minutos, realizou-se a leitura no espectrofotômetro a 660 nm. Em ambos os casos, a quantidade de amônio presente nas amostras foi estimada por meio de uma curva padrão de cloreto de amônio, com as concentrações de 0,5, 10, 15 e 20 µg de NH₄⁺ mL⁻¹.

Tratamentos e amostragens

Os tratamentos foram constituídos de cinco doses de resíduo úmido de cervejaria, equivalentes a 0, 0,5, 1, 2 e 4 t ha⁻¹; adubação completa (calagem, macro e micronutriente); controle (solo sem resíduo e sem adubação) e adubação completa com omissão de N associado a 4 t ha⁻¹ de resíduo, distribuídos em delineamento de blocos casualizados, com três repetições. Durante o desenvolvimento das plantas, foi efetuada uma reaplicação de nutrientes (mg kg⁻¹ solo): N, 60; P, 120; K, 62; Ca, 20; Mg, 30 e FTEBr12, 10. Aos 28 dias após a emergência, efetuou-se a colheita das plantas e análise das atividades enzimáticas no solo.

Análise estatística

Os dados médios obtidos, expressos em µg N-NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ substrato, foram comparados por meio do teste de SCOTT KNOTT, ao nível de 5% de probabilidade, no programa de estatística

SISVAR, pelo teste Scott- Knott, programa SISVAR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para a variação na atividade da urease em amostras de LVd, sob a cultura do milho, com diferentes dosagens do resíduo úmido de cervejaria (RUC) e omissão de nitrogênio, estão nas Figuras 1 e 2. Na Figura 1, pode-se observar que a análise estatística demonstrou que não houve diferença significativa para a velocidade de hidrólise da uréia, em função da dosagem do RUC. Os valores obtidos oscilaram entre 391,0 µg e 433,0 µg N-NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ solo, com média de 416,14 µg N-NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ solo.

De modo similar, os resultados para a atividade da arginase não foram afetados significativamente pelas doses aplicadas de resíduo, 0 a 4 t ha⁻¹. Entretanto, os valores médios estimados para esta enzima foi em torno de 10 vezes inferiores ao da urease, variando entre 34,0 e 40,0 µg N-NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ solo, com média de 34,33 µg N-NH₄⁺ h⁻¹ g⁻¹ solo. Esses dados devem-se, em parte, à diferença entre as naturezas bioquímicas destas enzimas. Enquanto, a urease é uma enzima extracelular e que pode ser acumulada nos colóides do solo a atividade da arginase depende da população microbiana metabolicamente ativa no momento da amostragem (ALEF & KLEINER, 1986; KANDELER E GERBER, 1988; BONDE 2001). Por outro lado, os valores observados para a atividade de ambas as enzimas oscilaram na faixa de valores outros já relatados (LONGO & MELO, et al., 2005; MARRIEL et al., 2008). O comportamento da enzima arginase aparentemente difere do esperado, uma vez que a atividade desta enzima reflete o *pool* de nitrogênio potencialmente mineralizável no solo (BONDE et al., 2001). Mas, vale ressaltar que, neste caso, as análises foram efetuadas 30 dias após a aplicação do resíduo, tempo suficiente para a mineralização do N orgânico presente no material.

CONCLUSÕES

A incorporação de resíduo úmido de cerveja ao solo de cerrado, até a dose 4 t ha⁻¹, não promove alterações na qualidade biológica do solo, determinada através da atividade das enzimas urease e arginase.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a FAPEMIG, CNPq e a EMBRAPA Milho e Sorgo e UNIFEMM, pela infra-estrutura e recursos financeiros para a execução do trabalho.

REFERÊNCIAS

a. Periódicos:

ALEF, K and KLEINER, D.. Arginine ammonification, a simple method to estimate microbial activity potentials in soils. *Soil Biology and Biochemistry* v.18 n°2: 233-235,1986.

BONDE, T.A.; NIELSEN, T. H.; MILLER, M.; SORENSEN, J. Arginine ammonification assay as a rapid index of gross N mineralization in agricultural soils. *Bio Fertil Soils*, 2001.

BROCHIER, M. A.; CARVALHO, S. Aspectos ambientais, produtivos e econômicos do aproveitamento de resíduo úmido de cervejaria na alimentação de cordeiros em sistema de confinamento. *Ciência Agrotécnica*, v. 33 n.5, p.1392-1399, 2009.

CALAZANS, G. M.; RODRIGUES, D.A.; ROCHA, H. L.; VALGAS, S. A. R.; SOUZA, G. M. DE.; TEIXEIRA, J. A.; MARRIEL, I. E.; Qualidade Biológica do solo após adição de pó de balão: I – atividade das enzimas urease e arginase. Sete Lagoas. Acadêmico de Engenharia Ambiental, Centro Universitário de Sete Lagoas, 2011.

DICK, R. P. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. In: DORAN, J. V.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (Ed.). **Defining soil quality of a sustainable environment** (Ed.). Madison: Soil Science Society of America, 1994. v. 35, p. 107-1247

DORAN, J.W.; ZEISS, M.R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology* 15: 3-11, 2000.

IAFIGLIOLA, M. C. Uso de levedura desidratada como fonte de proteína para suínos em crescimento e terminação. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v.27. n.6, p.1160-1167, 1998

KANDELER, E.; GERBER, H. Short term assay of soil urease activity using colorimetric determination ammonium. *Biol. Fertil. Soils*, 6:68-72, 1988.

KLAGENBOECH, R.; THOMAZINI, M.H.; SILVA, G.M.C..RESÍDUO ÚMIDO DE CERVEJARIA: UMA ALTERNATIVA NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL. Anais do III ENDICT – Encontro de Divulgação Científica e Tecnológica Universidade Tecnológica Federal do

Paraná UTFPR • campus Toledo • 19 a 21 de Outubro de 2011

LONGO, R.M.; MELO, W.J. de. Atividade da urease em latossolos sob influência da cobertura vegetal e da época de amostragem. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* vol.29 n.4 Viçosa Agosto, 2005.

LOPES, A. A. C.; SOUSA, D. G.M. ; MONTANDON, C. G.; REIS JUNIOR, F. B. ; GOEDERT, W. J. ; MENDES, I. C . Interpretation of Microbial Soil Indicators as a Function of Crop Yield and Organic Carbon. *Soil Science Society of America Journal*, v. 77, p. 461-472, 2013.

MARRIEL, I. E.; ADELARIO, F. M. S.; BORGES, A. L.; OLIVEIRA, A. A. N.; SILVA, U. C.; GUIMARÃES, L. J. M. Variação da Atividade de Arginase e urease na rizosfera de Genótipos de Milho Contrastantes no Uso de Nitrogênio. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, 2007.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; SOARES, C.M.; BOSCOLO, W.R. Utilização de levedura spray dried na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). *Acta Scientiarum*. v. 22. p. 479-484. 2000.

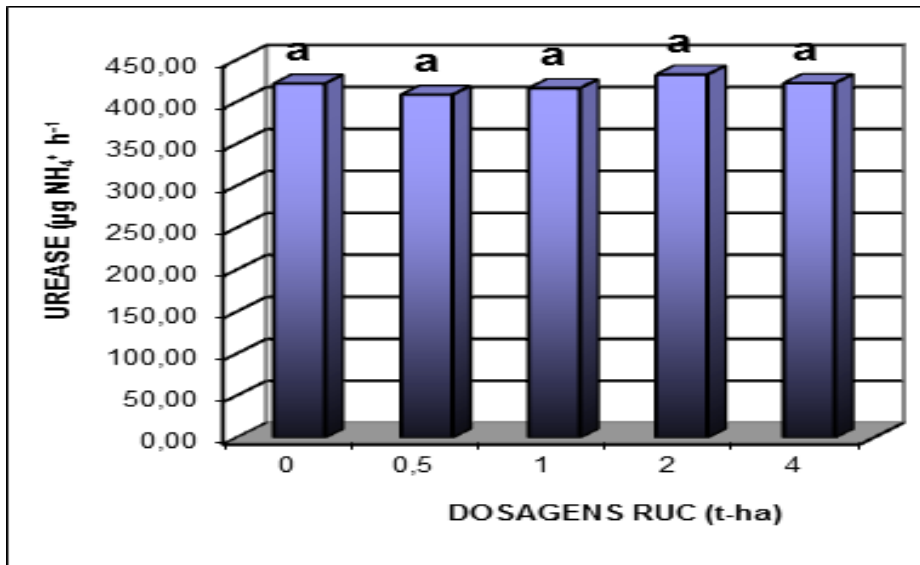


Figura 1. Atividade da urease em amostras de solo de cerrado submetido a diferentes doses de resíduo úmido de cervejaria (RUC) e cultivado com milho. Valores médios de três repetições.

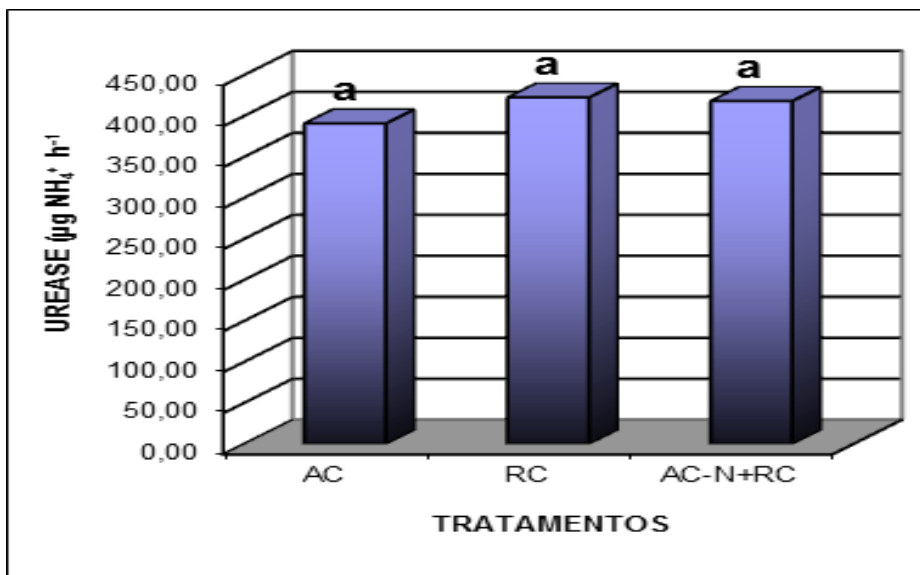


Figura 2. Atividade da urease em amostras de solo de cerrado na presença de adubação química (AC), resíduo úmido de cervejaria (RUC 4 t ha⁻¹) e omissão de nitrogênio com RUC, 4 t ha⁻¹. Valores médios de três repetições.