



## XX Congreso Latinoamericano y XVI Congreso Peruano de la Ciencia del Suelo

"EDUCAR para PRESERVAR el suelo y conservar la vida en La Tierra"

Cusco – Perú, del 9 al 15 de Noviembre del 2014 Centro de Convenciones de la Municipalidad del Cusco

# ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS DO SOLO DE ÁREAS MINERADAS EM RECUPERAÇÃO: I - ATIVIDADE DE UREASE E ARGINASE

Duarte, E.S. <sup>1\*</sup>; Teixeira, G.D <sup>2</sup>; Fonseca, L. M.F. <sup>3</sup>; Reis, D. P. <sup>3</sup>; Oliveira, M.C.R <sup>1</sup>; Marriel, I.E <sup>4</sup>; Faggi, A.M. <sup>1</sup>

Universidad de Ciencias Empresariales y sociales ; Biologa pela Fundação Comunitária de Ensino Superior de Itabira; Universidade Federal de São João Del Rei; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria 4

#### **RESUMO**

A qualidade biológica do solo representa componente importante da estabilidade e funções de ecossistemas. As atividades de enzimas envolvidas na ciclagem de nutrientes constituem bioindicadores sensíveis para detecção de alterações ambientais em funções de atividade antrópica. O objetivo deste trabalho foi avaliar alterações dos atributos biológicos do solo de áreas mineradas, em diferentes de estágio de recuperação, utilizando se atividades das enzimas urease e arginase como bioindicadores. Foram avaliados cinco sítios de áreas impactadas em diferentes estágios de recuperação, com 1, 5, 10, 15 anos, após a implantação de cobertura vegetal, e uma área adjacente com vegetação nativa, considerada como controle. A revegetação destas áreas foi efetuada utilizando se um coquetel de misturas de deferentes espécies gramíneas e leguminosa. A atividade das enzimas uresae e arginase foi determinada pela quantificação de amônio liberado pela hidrólise dos substratos ureia e arginina, respectivamente, utilizando-se método colorimétrico em amostras de solo coletadas nas profundidades de 0- 20 e 20-40. Não houve diferença significativa para a atividade de urease e arginase em função de profundidade. Contudo, observou-se uma ligeira tendência de decréscimo na atividade das enzimas com o aumento da profundidade recuperação ambiental. A atividade de urease em áreas em diferentes estágios de recuperação diferiu estatisticamente da área vegetação nativa. Atividade de urease apresentou maior sensibilidade e em detectar a recuperação dos diferentes manejos de solo, em relação à arginase, comportando-se como bioindicadores adequado de QS.

#### PALAVRAS CHAVE

Recuperação; enzimas; bioindicadores.

### INTRODUÇÃO

<sup>\*</sup> Autor de contato: Email: evaniduarte@yahoo.com.br Rua José farias Junior; n <sup>0</sup> 66 ;bairro Panorama, CEP.35 900 344, Itabira, Minas Gerais, Brasil.

A qualidade biológica do solo representa componente importante da estabilidade e funções de ecossistemas. Atualmente, atividades antrópicas de natureza diversas têm provocado alterações significativas na qualidade ambiental e de vida.

No Brasil a forte relação com os processo de mineração em função de sua riqueza em minerais diversos, que representam grande relevância para o produto interno bruto do país, cuja contribuição, em 2013, foi de USS\$ 83,3 bilhões, correspondente a aproximadamente 4,3% do PIB nacional (DNPM, 2014).

Não obstante sua contribuição de forma decisiva para o bem estar e a melhoria da qualidade de vida da população, merece atenção os impactos deste setor sobre a estabilidade e função dos ecossistemas. A atividade de mineração, assim como toda atividade extrativa de recursos naturais, de modo geral resulta em impactos negativos no meio ambiente, seja no que diz respeito à exploração de áreas naturais como na geração de resíduos. Segundo CPRM (2012), os principais problemas oriundos da mineração, considerada atividade antrópica de alto grau destrutivo, destacam-se a poluição da água, poluição do ar e poluição do solo.

De modo geral, a legislação brasileira recomenda que áreas afetadas por atividades antrópicas, independente da finalidade, sejam recuperadas, reabilitadas e/ou restauradas, visando o retorno destas áreas às características originais antes da degradação, de acordo com os preceitos do desenvolvimento sustentável.

A recuperação de áreas degradadas é um processo em constante aprimoramento que exige conhecimento, tecnologia e permanente monitoramento. Trata-se de criar condições para o restabelecimento de complexas redes de relações ecológicas entre solo, plantas, animais e microclima, que permitam o reequilíbrio dinâmico da natureza em áreas perturbadas ou impactadas (Reis, Zambonin E Nakazono, 1999). Assim, a recuperação ambiental deve buscar sempre restabelecer as estruturas e as funções ecológicas que havia no ecossistema, antes da degradação (Aumond, 2003; Arato et al., 2003).

Para o monitoramento do estágio de recuperação do solo, diferentes parâmetros tem sido recomentado, incluindo seus atributos químicos, físicos e biológicos, que refletem o status ambiental ou a condição de estabilidade e função de agroecossistemas (Doran & Parkin, 1994).

O uso de indicadores representa informações complementares na avaliação qualitativa dos solos e, por isso, têm sido recomendados como parâmetros sensíveis para detecção de impactos causados pelo manejo e uso inadequado do solo (Trasar-Cepeda et al., 1998).

O objetivo deste trabalho foi avaliar alterações dos atributos biológicos do solo de áreas mineradas, em diferentes de estágio de recuperação, utilizando-se, como bioindicadores, a atividade das enzimas urease e arginase envolvidas na dinâmica de nitrogênio.

#### MATERIAL E MÉTODOS

"O estudo foi conduzido em área pertencente à VALE S/A, no município de Itabira, MG, Lat.19°39'28" S e Long. 43°16'07" W,em ambiente dominado por depósitos naturais de minério de ferro. A área avaliada passou por diferentes períodos de recuperação com implantação de um coquetel de sementes de *Brachiaria decumbens, Brachiaria brizanttha*, Aveia Preta, Capim Gordura, Capim Jaraguá, Girassol, Nabo Forrageiro, Sorgo, Milheto, Azevem, *Crotalaria ocholeuca, Crotalaria juncea*, Mucuna Preta e Feijão Candu. Adubos: Super Simples, Cloreto de Potássio, FTE,NPK, Fosfato, Esterco. O coquetel utilizado para recuperação das áreas degradadas em diferentes níveis de recuperação foi o mesmo para todos.

As amostragem de solo para as análises de parâmetros microbiológicos foram efetuadas de acordo com o protocolo preconizado por Barros et al. (2009).

Inicialmente, foi feito a limpeza do local de coleta (para retirada de vegetação, quando existente), a amostragem dos solos (amostra composta por quadrante). Distante um do outro, em pelo menos 20 metros. As análises microbiológicas foram realizadas em duas profundidades: 0 a 20 cm e 20 a 40 cm. As perfurações foram feitas com enxadão e trato. De cada sítio, foram tomadas três amostras simples de, 2 a 3 m distância uma da outra, de aproximadamente, 1 kg, que, juntas e homogeneizadas, formaram uma amostra composta, coletaram-se 30 amostras compostas (5 locais x 2 profundidades x 3 repetições). Tais amostras foram colocadas em sacos plásticos com a umidade natural e colocadas em caixa de isopor com gelo para transporte até o laboratório, cuidado importante para as determinações microbiológicas. No preparo, as amostras foram, inicialmente passadas em peneira de malha de 4 mm de abertura.

Foram amostrados diferentes solos resultantes diferentes níveis de recuperação ambiental em área de mineração de ferro, tendo como controle uma área adjacente não degradada.

Os ambientes previamente selecionados em níveis de recuperação inicial, intermediários, tardio e mata secundária, apresentam semelhantes características climáticas, tipo de solos, condições de relevo e altitude. Na área se predomina o bioma da Mata Atlântica.

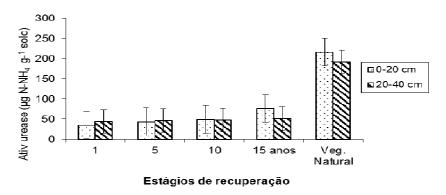
A determinação da atividade da enzima arginase nas amostras do solo foi feita pela quantificação de amônio liberado pela hidrólise da arginina utilizando-se o método colorimétrico de Alef & Keiner (1986). Amostras de 1,0 g de solo foram tratadas com 0,25 mL de solução de L-arginine (0,2 g/L) e incubadas por uma hora, a 37 °C. Após a incubação, adicionou-se 4mL de solução de KCI, 1M em cada amostra e mantidas 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 colorimétrica. Após sessenta minutos, realizou-se a leitura no espectrofotômetro a 660 nm.

A determinação da atividade da enzima urease nas amostras do solo foi realizada pela quantificação de amônio liberado pela hidrólise da ureia utilizando-se o método colorimétrico preconizado por Kandeler e Gerber (1988). Amostras de 0,5 g de solo foram tratadas com 0,25 mL de solução de ureia (4,8 g/L) e incubadas por uma hora a 37 °C. Após a incubação, adicionou-se 5 mL de solução de KCl, 1 M em cada amostra e mantidas 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.

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente, através da análise de variância (ANAVA). As médias dos tratamentos quando significativas foram comparadas pelo teste Scott e Knott, a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram efetuadas com o auxílio do aplicativo computacional SISVAR (Ferreira, 2008).

#### **RESULTADO E DISCUSSÃO**

Os dados obtidos para atividade da urease em amostras de solo de diferentes estágios de recuperação estão apresentadas na figura 1 .



**Figura 1.** Atividade da urease das amostras (μgN-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>h<sub>-1</sub>g<sup>-1</sup>. solo) nos tratamentos de diferentes estágios de recuperação. Valores médios de três repetições

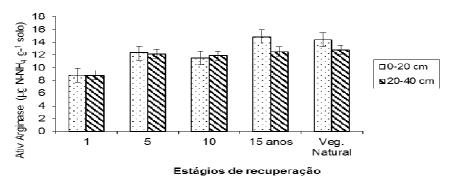
As análises estatísticas revelaram diferenças significativas ( p< 0,06 ) para a atividade desta enzima em função dos diferentes estágios de recuperação. Os valores encontrados para as profundidades de 0-20 variaram de 35 a 76 (μgN-NH4+h-1g-1. Solo) μL. Nos tratamentos de 1 e 15 anos, foi evidenciado cm aumento de 46%. Sendo que 35% diferença de 15 anos para a vegetação nativa.

Para a profundidade 20-40 os valores encontrados ocilaram de 44 a 51(µgN-NH4+h-1g-1. Solo) µL com maiores valores também apresentados para amostras da área com 15 anos de revegetação. Com acréscimo de 16% em relação ao tratamento 1. Estes valores apresentaram 26% por cento com relação do controle da atividade detectada sobre vegetação natural. Entretanto não houve diferença significativa nos valores observados para as enzimas em função a

profundidade. Esses dados sugerem melhoria da qualidade de solos após a implantação do coquitel de espécies, mas ainda distante do estado funcional da área de controle.

A urease é uma enzima produzida principalmente por microrganismos (Tabatabai, 1994). Resultados de pesquisa mostram significativa relação entre a atividade da urease e biomassa microbiana (Klose & Tabatabai, 1994). Esta enzima tem sido utilizada na detecção de mudanças na qualidade dos solos sob variados agroecossistemas (Roscoe et al., 2000, Klose & Tabatabai, 1999;), principalmente, em razão de sua importância no ciclo do nitrogênio. A urease está associada aos agregados do solo, podendo permanecer estável por tempo relativamente longo (Tabatabai, 1994).

As concentrações de arginase no solo em recuperação apresentaram diferença significativa para os solos em diferentes estágios de recuperação ambiental Figura 2.



**Figura 2.** Atividade da arginase das amostras (μgN-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>h<sub>-1</sub>g<sup>-1</sup>. solo) nos tratamentos de diferentes estágios de recuperação. Valores médio de três repetições

Observou-se uma ligeira tendência de decréscimo na atividade de urease com o aumento da profundidade nos diferentes níveis de recuperação. Esses dados corroboram com os estudos realizados por Marriel et al. (2005), que estudando a atividade de urease em diferentes profundidades nas culturas do milho, crotalária e mucuna, indicaram o mesmo decréscimo na cultura do milho.

De modo similar, maiores valores de atividade enzimática na camada superficial do solo, também foram verificados por Garcia e Nahas (2007). A atividade de urease e arginase em áreas cultivadas com milho (monocultivo e consorciado), soja e pastagem diferiram estatisticamente da área de mata Atlântica. Segundo Bandick e Dick (1999) é comum encontrar valores relativamente maiores em solos de mata quando comparados a solos com outro tipo de vegetação e mesmo em solos sob recuperação, já que a microbiota é favorecida pela maior diversidade florística e pela cobertura vegetal, que propicia maior acúmulo de matéria orgânica, fornecendo maior quantidade de nutrientes para o desenvolvimento da comunidade microbiana.

A dinâmica de nutrientes em ecossistemas quaisquer são mediadas por enzimas principalmente de origem microbiana e, portanto, retém a qualidade biológica do solo (DICK, 1994; DORAN e ZEISS, 2000).

#### CONCLUSÕES

Ambas enzimas se mostram eficientes para detectar alterações na qualidade biológica do solos, independentes da profundidade.

Há estímulos na atividade das enzimas urease e arginase em função do tempo de revegetação do sítios estudados

Após 15 anos de revegetação a qualidade biológica de solo não atingiu o status funcional do ecossistema sob a vegetação nativa.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Fapemig, Embrapa Milho e Sorgo, Universidad de Ciencias Empresariales y sociales, VALE S/A.

#### **BIBLIOGRAFIA**

Arato, H. D.; Martins, S.V.; Ferrari, S.H.S. Produção E Decomposição De Serrapilheira Em Um Sistema Agroflorestal Implantado Para Recuperação De Área Degradada Em Viçosa-Mg. Árvore, Viçosa-Mg, V.27, N.5, P.715-721, 2003.

Alef, K.; Kleiner, D. Arginine Ammonification, A Simple Method To Estimate Microbial Activity Potential In Soils. Soil Biology And Biochemistry, Oxforf, V. 18, N. 2, P. 233-235, 1986.

Aumond, J. J. Teoria Dos Sistemas: Uma Nova Abordagem Para Recuperação E Restauração Ambiental. In: li Simpósio Brasileiro De Engenharia Ambiental, 2003, Itajaí. Anais... Itajaí, 2003, 6 P.

Bandick, A. K. & Dick, R.P. Field Management Effects On Soil Enzyme Activities. Soil Biol. Biochem., 31:1471-1479, 1999.

Barros, Y.J. Et Al. Indicadores De Qualidade De Solos De Área De Mineração E Metalurgia De Chumbo: I - Avaliações Físicas E Químicas. R. Bras. Ci. Solo, Enviado Para Avaliação – 2009.

Crpm. Perspectivas Do Meio Ambiente Do Brasil – Uso Do Subsolo. Mme - Ministério De Minas (2012).

Dnpm Departamento Nacional De Produção Mineral Agosto De 2014 Sergio Augusto Dâmano De Sousa Diretor Geral.

Doran, J.W.; T.B Defining And Assessing Soil Quality. In Doran, J.W.; Colemand, D.C.; Bezdicek, D.F; Stewart, B.A (Ed). **Defining Soil Quality For A Sustainable Environment.** Madison: Soil Science Society Of America, 1994.P.107-124. (Special Publication Number, 35).

Ferreira, D.F. Sisvar: Um Programa Para Análises Estatísticas E Ensino De Estatística. Revista Symposium, V.6, P.36-41, 2008.

Garcia, M.R.L.; Nahas, E. Biomassa E Atividades Microbianas Em Solo Sob Pastagem Com Deferentes Lotações De Ovinos. Revista Brasileira De Ciência Do Solo, V. 31, P.269-276, 2007.

Kandeler, E.; Gerber, H. Short Term Assay Of Soil Urease Activity Using Colorimetric Determination Ammonium. Biology And Fertility Of Soils, Berlin, V. 6, P. 68-72, 1988. Klose, S.; Tabatabai, Ma Urease Activity Ofmicrobial Biomass In Soils. Soil Biol. Biochem., 31:205-211, 1999.

Marriel. I. E.; Oliveira, C. A.; Utida, M. K.; Monteiro, G. G.; Alvarenga, R. C.; Cruz, J. C. Bioindicadores De Qualidade Do Solo De Cerrado Sob Sistemas De Manejo Para A Produção Orgânica. Circular Técnica. Sete Lagoas. V. 6. P. 1-6, 2005.

Tabatabai, M.A. Soil Enzymes. In Weaver, R. W. Et Al. (Ed.), Methods Of Soils Analysis, Part 2, Pp. 797-798. Soil Science Society Of America, Madison, 1994.

Trasar-Cepeda, C.; Leirós, C.; Gil-Sotres, F.; Seoane, S. Towards A Biochemical Quality Index For Soils: Na Expression Relating Several Biological In Biociochemical Properties. Biology And Fertility Of Soils, V. 26, P. 100-106, 1998.

REIS, A., ZAMBONIN, R. M.; NAKAZONO, E. M. Recuperação de áreas florestais degradadas utilizando a sucessão e as interações planta-animal. Série Cadernos da Biosfera 14. Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica. Governo do Estado de São Paulo. São Paulo, 1999. 42 p.