

**NUTRIENTES E ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM LATOSOLO
VERMELHO-AMARELO TEXTURA MÉDIA, TRATADO COM VINHAÇA,
SOB CULTURA DE MILHO***

Sânia Maria TAUK**
Antônio Mário MEDEIROS***

RESUMO: Durante a permanência da cultura de milho em Latossolo Vermelho-Amarelo textura média, para evitar deixá-lo exposto por longo período sem cobertura vegetal após a retirada da cana-de-açúcar, estudou-se o efeito da adição de vinhaça, em relação ao adubo mineral e ao solo testemunha. Foram instaladas aleatoriamente quatro parcelas de 100m² cada uma para cada tratamento utilizado, de onde foram retiradas amostras de solo de até 15cm de profundidade. Os parâmetros estudados foram temperatura a 5cm e a 20cm de profundidade, umidade, pH, matéria orgânica, cálcio, magnésio, fósforo, nitrogênio total, carbono orgânico, alumínio, capacidade de troca catiônica, relação carbono/nitrogênio e atividades da invertase, amilase, celulase e urease. Determinou-se a temperatura e a umidade relativa do ar durante as coletas das amostras do solo. Este, quando tratado com vinhaça, em relação ao solo testemunha, apresentou acréscimo do pH e dos teores de cálcio, magnésio e potássio somente nas entrelinhas e decréscimo da atividade da amilase e do teor de alumínio nas linhas de cultura, porém, esses efeitos foram temporários.

UNITERMOS: Vinhaça; milho; latossolo vermelho-amarelo; atividade enzimática; celulase; amilase; invertase; urease.

INTRODUÇÃO

Atuando na síntese e degradação das enzimas do solo, existe um grande número de fatores ambientais que interagem, tornando os estudos complexos. Assim, quando

* Financiado pela FINEP.

** Professora Adjunta do Departamento de Ecologia – Instituto de Biociências – UNESP – Caixa Postal 178 – 13500 – Rio Claro – SP.

*** Engenheiro Agrônomo da Usina São João – 13600 – Araras – SP.

a vinhaça é adicionada com herbicidas no solo^{1,2}, provavelmente ocorrem interações que podem mascarar o efeito real do resíduo, considerando-se que alguns insumos agrícolas podem constituir fonte de carbono, ou serem tóxicos para a atividade microbiana do solo³.

A atividade enzimática do solo, que traduz sua capacidade e sua velocidade em mineralizar a matéria do mesmo, pode ser medida por várias técnicas⁴, entre elas a medida da atividade enzimática, destacando-se a celulase, amilase, urease, invertase, fosfatase e ATPase. O estudo conjunto da dinâmica e da diversidade microbiana com a atividade enzimática contribui para melhor entendimento da atividade do solo.

A ação da vinhaça no solo de cultura de cana-de-açúcar vem sendo estudada^{5,6,7}, além da verificação de seu efeito na produtividade de feijão, milho e gergelim⁸ e em ecossistema de pastagem⁹. Em relação à microbiota do solo e suas possíveis alterações com a adição de doses cumulativas do resíduo, foram estudadas em solo sob vegetação de cerrado, de milho e de cana-de-açúcar^{7,10,11}.

O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito da adição da vinhaça em Latossolo Vermelho-Amarelo textura média em cultura de milho, sobre seus nutrientes e atividade enzimática, nas linhas e nas entrelinhas da cultura.

MATERIAIS E MÉTODOS

Uma área da Fazenda São José, município de Rio Claro, SP, foi mantida durante quatro anos com cana-de-açúcar que substituiu a vegetação de cerrado, quando foi retirada para seu reimplantante. Com a finalidade de o Latossolo Vermelho-Amarelo textura média não ficar exposto, sem cobertura vegetal durante muito tempo, foi implantada uma cultura de milho em parcelas de 100m², com três tratamentos, vinhaça de caldo 80m³/ha, adubo mineral 5-30-20 (N-P₂O₅-K₂O) 250 kg/ha e solo testemunha, utilizando-se quatro parcelas para cada um deles. A composição da vinhaça de caldo foi de N = 0,33, P₂O₅ = 0,12, K₂O = 3,84, CaO = 1,05, MgO = 0,51 em Kg/m³, matéria orgânica = 21,65% e pH = 4,15. A adição deste resíduo foi efetuada a quente (80°C) por toda a extensão das parcelas, e o adubo mineral sómente nas linhas ou sulcos da cultura de milho.

Após 40, 70, 90 e 110 dias de plantio foram colhidas três amostras contendo três subamostras de cada parcela, retiradas de 0-1,5cm de profundidade, nas linhas e nas entrelinhas da cultura. As amostras de solo foram colocadas em sacos plásticos e, no laboratório, foram passadas em peneiras com malhas⁴ de 2,83mm. Durante as coletas das amostras, foram realizadas medições de temperatura ambiente (°C) e da umidade relativa do ar (%) com termohigrômetro e da temperatura do solo (°C) a 5 e a 20 cm de profundidade, com termômetro de haste.

A umidade do solo foi determinada⁷ com amostras compostas colocadas em latas de alumínio e o teor da matéria orgânica foi calculado com técnica citada na literatura¹². A análise química e físico-química do solo foi realizada em cada amostra com-

posta pelo Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP, de acordo com a metodologia usual citada na literatura^{7,13,14}.

Amostras compostas do solo (20 g) das parcelas foram colocadas em frascos volumétricos de 100 ml, contendo cada um, 2 ml de tolueno. Após 15 minutos foram adicionados 20 ml de tampão específico para cada enzima estudada, acrescentando-se 10 ml de substrato respectivo, de acordo com a metodologia citada na literatura, urease⁴, invertase¹⁵, amilase¹⁶ e celulase¹⁷.

Os frascos foram mantidos a 37°C, durante um tempo específico para cada uma das enzimas, com agitação constante e após incubação, os volumes foram completados até 100 ml com água destilada, ficando o tolueno acima do menisco do balão volumétrico. Os frascos foram fortemente agitados e o conteúdo filtrado em papel⁴ Whatman nº 5. A amônia foi medida pelo método de azul de indofenol⁴ e os açúcares redutores pelo método de colorimetria¹⁸.

As unidades das enzimas foram definidas anteriormente para as mesmas condições aqui utilizadas⁷, com temperatura de incubação de 37°C e em 10g de solo (peso seco).

A análise estatística dos resultados obtidos foi realizada com o teste de variância com um ou três fatores e com réplicas e com o teste do limite da menor diferença (LSD), quando houve diferença significativa¹⁹ a 1 e a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra que a maior temperatura ocorreu no mês de novembro, correspondendo a um dia após a retirada da cana-de-açúcar e no mês de março do ano seguinte, aos 110 dias depois do plantio do milho. As maiores umidades relativas do ar e a temperatura do solo medida a 5 cm de profundidade foram observadas, respectivamente, após 90 e 110 dias do plantio do milho. A temperatura do solo apresentou diferença estatisticamente significativa quanto ao período de coleta ($F = 1,12,30^{**}$) e quanto à profundidade de medição desse parâmetro ($F = 34,70^{**}$), ou seja, a 5 e a 20 cm. Este parâmetro variou significativamente quanto aos tratamentos depois dos 40 dias do plantio ($F = 4,80^{*}$), quanto aos períodos de coletas ($F = 282,80^{***}$) e às linhas e entrelinhas ($F = 24,58^{**}$). O teste "LSD" demonstrou que as variações da umidade do solo permaneceram somente até 90 dias do plantio, nas parcelas tratadas com vinhaça em relação ao solo testemunha.

Em área de cerrado com o mesmo tipo de solo aqui em estudo, doses cumulativas desse resíduo acarretaram aumento da umidade do solo, dependendo do número e do volume utilizados, pois depois de cinco anos de tratamento, não foi mais verificado. Em cultura de cana-de-açúcar após quatro anos de adição de vinhaça, observou-se a ausência do acréscimo da umidade do solo⁷, mesmo resultado encontrado por outro autor²⁰ e ecossistemas de pastagem⁹.

Os teores de matéria orgânica, Tabela 1, sofreram variações quanto aos períodos de coletas ($F = 7,40^*$) e às linhas e entrelinhas ($F = 7,18^{**}$). Observou-se que durante o crescimento da planta houve decréscimo da matéria orgânica nos sulcos da cultura em relação às entrelinhas, nas parcelas com adubo mineral e no solo testemunha.

Antes da instalação da cultura de milho, o pH do solo foi de 4,8, ocorrendo alcalinização do mesmo durante a permanência dessa. A análise estatística demonstrou que não houve diferença significativa quanto aos tratamentos utilizados, porém nas entrelinhas a vinhaça aumentou os valores deste parâmetro em relação àqueles do solo testemunha ($F = 4,40^*$). Houve variação do pH quanto ao período de coleta ($F = 18,90^{**}$), mas outros fatores podem atuar sobre esse⁷, entre eles a cobertura vegetal⁹, profundidade do solo e o volume de doses anuais¹³.

Os teores de Ca^{+2} , Tabela 1, variaram estatisticamente após 70 dias do plantio ($F = 5,25^{**}$) e o teste "LSD" demonstrou que a vinhaça e o adubo mineral apresentaram este parâmetro em relação ao solo testemunha. Estas variações foram verificadas somente quanto às linhas e entrelinhas da cultura ($F = 11,77^{**}$), ocorrendo maiores valores nestas últimas.

Resultados semelhantes foram observados para os teores de Mg^{+2} nas parcelas com vinhaça, porém distintos naquelas com adubo mineral, ocorrendo diferenças, entretanto, quanto aos períodos de coletas ($F = 4,40^*$) e quanto às linhas e entrelinhas ($F = 4,69^*$), porém não em relação aos demais fatores. O acréscimo deste fator tem sido citado como uma das vantagens da aplicação da vinhaça no solo de cultura de cana-de-açúcar²¹. Devem ser estabelecidos, porém, o número e o volume de doses deste resíduo que deverão ser usados, para não alterar a relação ideal entre os fatores K^+ , Ca^{+2} e Mg^{+2} no complexo de troca, definida para a cultura de cana-de-açúcar de $\text{Ca/Mg} = 4,0$; $\text{Mg/K} = 4,022$.

A vinhaça acarretou decréscimo do teor de Al^{+3} após 70 dias do plantio ($F = 7,97^{**}$) efeito temporário, ocorrendo variação do fôrno quanto ao período de coleta ($F = 605,48^{**}$). Este efeito foi citado para o solo sob vegetação de cerrado^{9,10}, no qual o pH é extremamente baixo. Na cultura em estudo, o solo apresentou $\text{pH} = 5,0$, o que pode ter contribuído para diminuir a toxicidade deste fôrno para a planta cultivada, Tabela 1.

Os teores de fósforo variaram decréscimo após 70 dias do plantio ($F = 68,79$) quanto aos tratamentos e quanto às linhas e entrelinhas ($F = 36,22^{**}$). O teste "LSD" indicou que nas parcelas tratadas com adubo mineral houve aumento dos teores de fósforo em relação ao solo testemunha, entretanto a adição de vinhaça acarretou aumento maior do que aqueles produzidos pela adição de adubo mineral.

A CTC do solo apresentou acréscimo após 70 dias do plantio ($F = 7,21^{**}$), ocorrendo variações quanto às linhas e entrelinhas ($F = 6,53^*$). O teste "LSD" mostrou aumento da CTC somente nas entrelinhas das parcelas tratadas com adubo mineral.

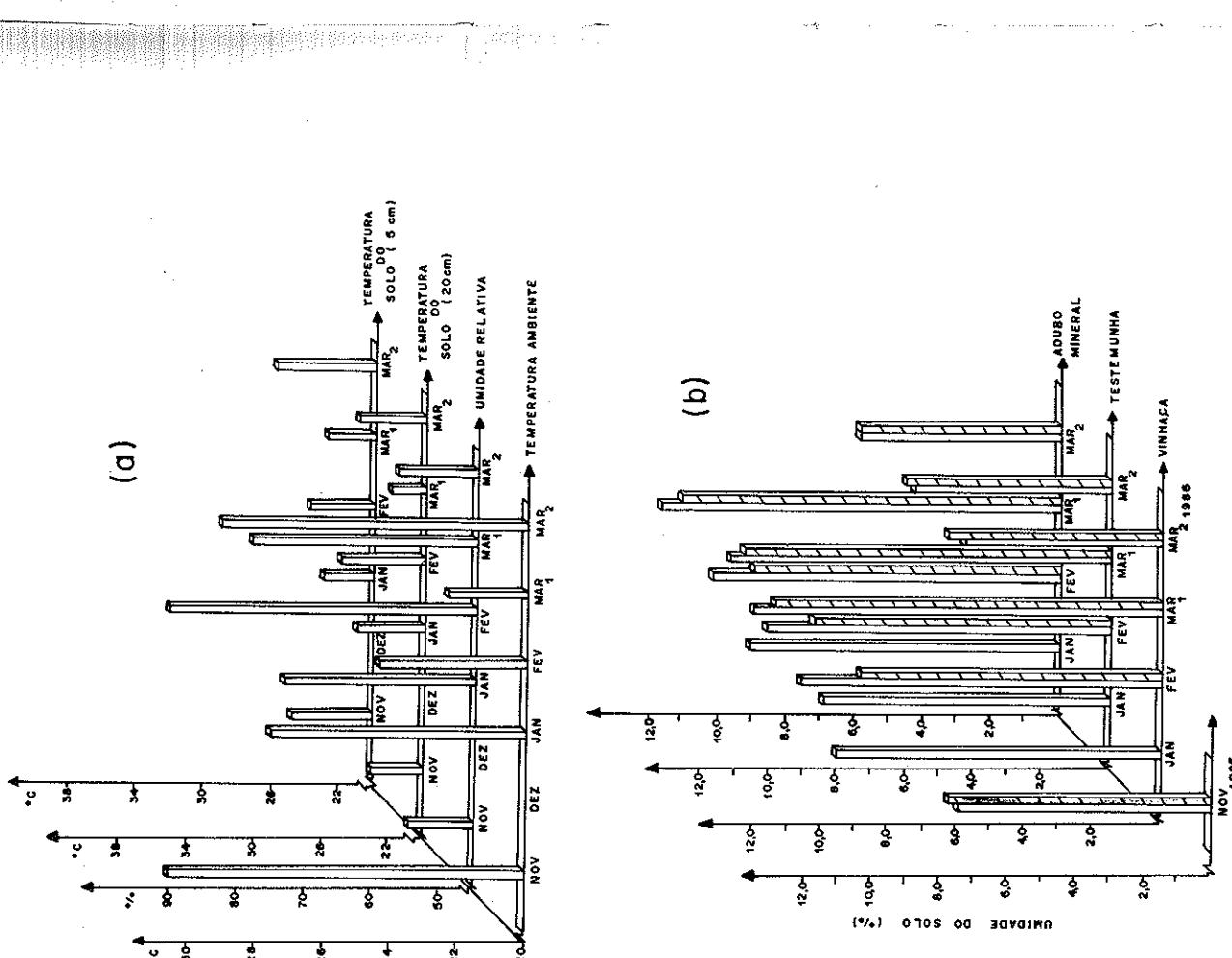


Fig. 1 - Medidas microclimáticas (a) e teor da umidade do solo (%) (b) com diferentes tratamentos, das linhas (□) e entrelinhas (■) da cultura de milho, com até 110 dias de idade e no solo antes da implantação da cultura (NOV).

mineral. O acréscimo deste parâmetro em solo de cultura de cana-de-acúcar e sob vegetação de cerrado quando tratado com vinhaça depende do número e do volume de doses adicionadas e da profundidade de coleta de solo⁷. Os resultados em relação à CTC demonstraram que não somente a diferença da metodologia, mas também os fatores ambientais do ecossistema, contribuem para se observar efeitos distintos da vinhaça sobre este parâmetro, acréscimo²³ e decréscimo^{14,24}.

O nitrogênio total apresentou variação estatisticamente significativa quanto aos períodos de coletas ($F = 7,42^{**}$) e às linhas e entrelinhas ($F = 7,30^{**}$). No solo sob vegetação de cerrado também não foi observado aumento deste parâmetro com adição deste resíduo⁷, sendo que este mesmo em doses aplicadas de 100 e 1.000m³/ha/ano, durante cinco anos, não alterou significativamente as quantidades de NO_3^- , NH_4^+ e fósforo solúvel²⁵.

A atividade da invertase variou quanto ao período de coleta ($F = 112,40^{***}$), e maior atividade foi observada após 110 dias do plantio, Figura 2. Este efeito pode ter sido meramente um fenômeno de ativação ou inibição do mecanismo catalítico da enzima, consequentemente o acréscimo de sua atividade por ácidos húmicos, fulvicos e polimálicos foi atribuído à mudança conformacional da enzima causada por estes ácidos²⁶.

Os tratamentos acarretaram variações da atividade da amilase após 90 e 110 dias do plantio ($F = 4,63$) e o teste "LSD" mostrou que houve diminuição deste parâmetro no solo tratado com vinhaça em relação ao testemunha. O mesmo efeito foi verificado com a adição do adubo mineral, porém em períodos diferentes e em menor escala. A atividade da amilase variou quanto aos períodos de coletas ($F = 85,85^{***}$), sendo que seus valores expressos em unidades são demonstrados na Figura 3. O decréscimo deste parâmetro por adição do resíduo é atribuído à natureza coloidal da matéria desta que pode ter imobilizado a enzima por inativação parcial, mas ao mesmo tempo protegendo-a contra uma desnaturação, mesmo efeito dos colóides do solo, orgânicos ou minerais, sobre as enzimas extracelulares^{27,28}.

A atividade da celulase não sofreu variações quanto aos tratamentos e às linhas e entrelinhas da cultura mas apenas diversificou-se quanto aos períodos de coleta ($F = 303,61^{***}$), sendo maior aos 110 dias após o plantio, Figura 4. O mesmo efeito foi verificado para a atividade da urease, que variou somente quanto a este mesmo fator ($F = 15,5^{**}$), e seu valor foi observado aos 90 dias após o plantio, nas parcelas tratadas com adubo mineral, Figura 5.

Verificou-se que na cultura de milho, de acordo com o manejo e com a metodologia utilizada, a vinhaça adicionada ao solo acarretou acréscimo do pH, Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^+ , P_2O_5 e decréscimo da atividade da amilase e do teor de Al^{+3} . Estes efeitos foram temporários, semelhantemente àqueles observados no solo sob vegetação de cerrado^{7,10}. Nas mesmas amostras de solo em pauta foram ainda determinados outros parâmetros, entre eles, o número de microorganismos, onde observou-se aumento de bactérias e actinomicetos, porém temporariamente e em períodos distintos, não ocorrendo mudanças do número de fungos filamentosos, ao contrário do observado em área de cerrado⁷, devido ao número e volume de doses de vinhaça utilizados.

Tratamentos	VINHAÇA		TESTEMUNHA		ADUBO MINERAL		Amostragem em dias (c)	NOV.	40	70	90	110	70	90	110
	Parâmetros	Organíca (%)													
PH	Claro, SP														
Ca^{+2} (a)	0,6	0,1	1,3	1,3	1,1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Mg^{+2} (a)	0,4	0,1	0,9	1,4	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
K^+ (a)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Al^{+3} (a)	2,4	2,2	1,5	1,3	1,5	1,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
CTC(a)	3,5	3,2	4,9	3,8	4,0	4,0	3,8	3,8	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6
N total (%)	0,1	0,2	11,9	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Relação CN	11,8	11,7	11,5	11,7	11,5	11,5	11,3	11,2	11,8	11,4	11,6	11,6	11,7	11,6	11,7
P_2O_5 (b)	8,0	3,5	4,0	4,5	5,5	5,4	4,2	4,3	3,5	3,0	3,1	3,5	3,8	7,1	6,0

D = dentro da linha; E = entrelinhas do cultivo de milho; (a) = miligquivaleentes/100 g de solo; (b) = $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ de solo; NOV. = 26.11.1985, antes do plantio; (c) = idade da cultura em dias após o plantio.

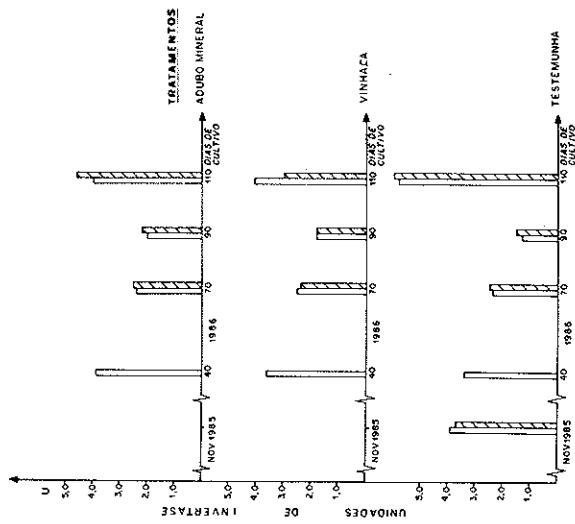


Fig. 2 - Unidades da invertase, IU igual a 5,0 mg de glicose produzidos em 100 g (peso seco) de solo, durante 6 horas a 37°C, em Latossolo Vermelho-Amarelo, com diferentes tratamentos, sob cultura de milho, com até 110 dias de idade. □ = dentro da linha; ■ = entrelinhas e NOV. 1985 = solo antes da instalação da cultura.

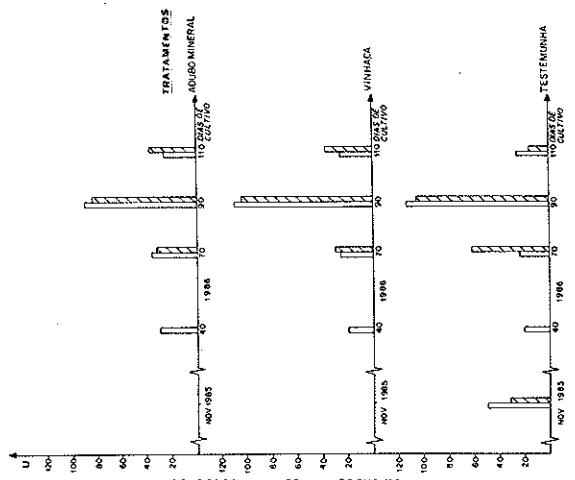


Fig. 4 - Unidades de celulase, IU igual a 0,1mg de glicose produzidos em 100 g (peso seco) de solo, durante 24 horas a 37°C, em Latossolo Vermelho-Amarelo, com diferentes tratamentos, sob cultura de milho, com até 110 dias de idade. □ = dentro da linha; ■ = entrelinhas e NOV. 1985 = solo antes da instalação da cultura.

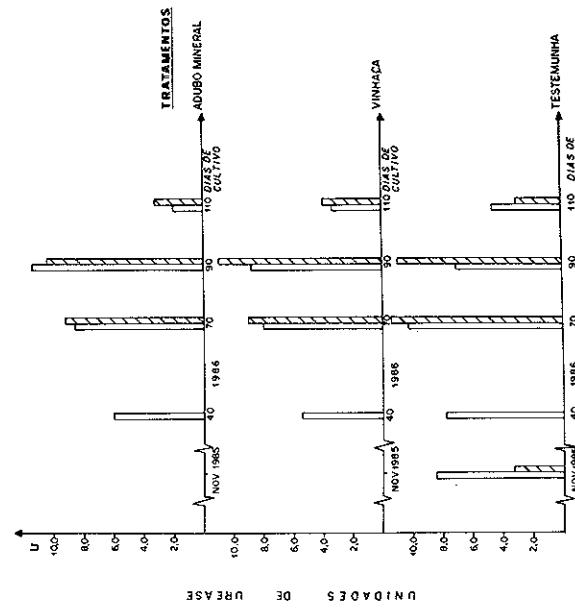


Fig. 5 - Unidades de urease, IU igual a 0,1mg de amônia produzidos em 100 mg (peso seco) de solo, durante 6 horas a 37°C, em Latossolo Vermelho-Amarelo, com diferentes tratamentos, sob cultura de milho, com até 110 dias de idade. □ = dentro da linha; ■ = entrelinhas e NOV. 1985 = solo antes da instalação da cultura.

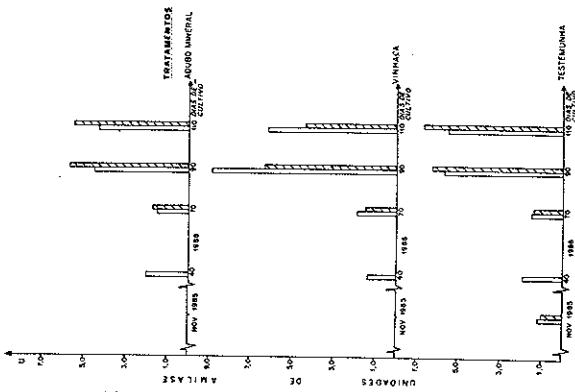


Fig. 3 - Unidades da amilase, IU igual a 2,0 mg de glicose produzidos em 100 g (peso seco) de solo, durante 24 horas a 37°C, em Latossolo Vermelho-Amarelo, com diferentes tratamentos, sob cultura de milho, com até 110 dias de idade. □ = dentro da linha; ■ = entrelinhas e NOV. 1985 = solo antes da instalação da cultura.

As medidas de atividade enzimática juntamente com dados de populações microbianas têm sido utilizados como indicadores da fertilidade do solo²⁹, e, baseando-se nos resultados encontrados e naquele citado na literatura, pode-se concluir que a adição da vinhaça nas condições estudadas não contribui para o acréscimo da fertilidade ou da atividade do solo sob cultura de milho que substituiu a cultura de cana-de-açúcar antes tratada com adubos, herbicidas e inseticidas durante quatro anos.

CONCLUSÕES

O efeito da adição de vinhaça em Latossolo Vermelho-Anarelo textura média em cultura de milho foi temporário e não acarretou acréscimo da fertilidade e da atividade do mesmo, apesar de ter contribuído para o acréscimo de pH, Ca⁺², Mg⁺², K⁺, P₂O₅ e decréscimo do Al⁺³. Houve ainda diminuição da atividade da amilase.

ABSTRACT: The effects of vinasse addition on the nutrients and enzymatic activity in red-yellow latossil treated with vinasse, in maize crop. *Ecl. Quím., São Paulo, 14:* 83-94, 1989.
KEY-WORDS: Vinasse; maize crop; red-yellow latossil; enzymatic activity; cellulase; amylase; invertase; urease.

8. RANZANI, G.; BRASIL SOBRINHO, M.O.C.; MALAVOLTA, E. & COURY, I. – *Anais da ESALQ*, 10, 97 (1953).
9. MEIRELES, N.M.F.; ABRAMIDES, P.L.G.; BIANCHINI, A.; VALARINI, M.J. & CASAGRANDE, D.V. – *Zootecnia*, 21, 323 (1983).
10. COSTA, S.M.G. DA – *Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro, 1983.*
11. TAUK, S.M. & RUEGGER, M.S. – *Rev. Microbiol.*, 18, 67 (1987).
12. MC LEAN, R.C. & COOK, W.R.I. – *Practical field ecology: a guide for the Botany Department of Universities, Colleges and Schools*, George Allen & Unwin, London, 1968.
13. CAMARGO, O.A. de; VALADARES, J.M.S. & GERALDI, R.N. – *Bol. Cient. Instituto Agronômico de Campinas*, 76, 1 (1983).
14. CAMBIUM, F.A. & CORDEIRO, D.A. – *Stab*, 4, 27 (1986).
15. HESTRIN, S.; BEINGOLD, D.S. & SCHRAMM, M. – *Methods Enzymol.*, 1, 251 (1955).
16. WATANABE, K. & FUKIMBARA, T. – *J. Ferment. Technol.*, 45, 335, (1967).
17. STEVEN, F. – *Methods Enzymol.*, 1, 173 (1955).
18. NELSON, N.S. – *J. Biol. Chem.*, 153, 375 (1944).
19. SOKAL, R.R. & ROHLF, F.S. – *Biometry*, Freeman and Company, San Francisco, 1969.
20. MAZZA, J.S. – *Dissertação de Mestrado, ESALQ*, Piracicaba, 1985.
21. NEVES, M.C.P.; LIMA, I.T. & DOBEREINER, J. – *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, 7, 131 (1983).
22. GOMES, P. – *Adubos e adubações*, 11^a ed., Ed. Nobel, São Paulo, 1984.
23. MATTIAZZO, M.E. & GLORIA, N.A. – *Brasil Açúcar*, 95, 24 (1980).
24. LEAL, J.R.; AMARAL SOBRINHO, N.M.G.; VELLOSO, A.C.X. & ROSDIELLO, R.O.P. – *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, 7, 257 (1983).
25. CAMARGO, O.A. de; VALADARES, J.M.S.; BERTON, R.S. & TEÓFILO SOBRINO, J. – *Bol. Cient. do Instituto Agronômico de Campinas*, 8, 1 (1987).
26. VAUGHAN, D. & ORD, B.G. – *Soil Biol. Biochem.*, 12, 449 (1980).
27. BACHLER, M.J.; STRANDBERG, G.W. & SMILEY, K.M. – *Biotechnol. Bioeng.*, 12, 85 (1970).
28. DOMMERGUES, S.V. & MANGENOT, F. – *Écologie microbienne du sol*, Masson et Cie, Paris, 1970.
29. HOWARD, P.J.A. – *Oikos*, 23, 235 (1972).

Recebido em 29.05.89
Aceito em 30.06.89

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BUSS, A. – *Dissertação de Mestrado, ESALQ*, Piracicaba, 1977.
2. LOPEZ, A.S. – *Solo sob "cerrado". Características, propriedades e manejo*, 2^a ed., Ed. Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fosfato, Piracicaba, 1984.
3. ANDERSON, J.P.E. & DOMSCH, K.H. – *Soil Biol. and Biochem.*, 10, 207 (1978).
4. MC GARITY, J.W. & MEYER, M.G. – *Plant Soil*, 27, 217 (1967).
5. ALMEIDA, M.T. – *Dissertação de Mestrado, ESALQ*, Piracicaba, 1983.
6. CAMARGO, O.A. de; VALADARES, J.M.S. & GERALDI, R.N. – *Bol. Cient. do Instituto Agronômico de Campinas*, 9, 23 (1987).
7. TAUK, S.M. – *Tese de Livre Docência, Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro, 1987.*