



# INDICADORES MICROBIOLÓGICOS EM SOLOS ARENOSOS CULTIVADOS COM CANA-DE-AÇÚCAR SOB DIFERENTES PRÁTICAS DE MANEJO

*Alessandro Cesar Vicente Gois Junior<sup>1</sup>, Rayane de Castro Marzola<sup>2</sup>, Jean Evens Alcinat<sup>3</sup>, Amanda Eustachio Pereira<sup>4</sup>, Edneia Aparecida de Souza Paccola<sup>5</sup>, Francielli Gasparotto<sup>6</sup>*

<sup>1</sup>Acadêmico do Curso de Agronomia, Campus Maringá/PR, Universidade Cesumar – UNICESUMAR. Bolsista ICETI-Fundação Araucária. [alessandrogoisjunior@outlook.com](mailto:alessandrogoisjunior@outlook.com).

<sup>2</sup>Acadêmica do Curso de Agronomia, Campus Maringá/PR, Universidade Cesumar – UNICESUMAR. PVIC-Unicesumar. [rayanemarzola@gmail.com](mailto:rayanemarzola@gmail.com)

<sup>3</sup>Mestrando em Tecnologias Limpas, PPGTL, Universidade Cesumar – UNICESUMAR. Bolsista ICETI-UniCesumar/Fundação Araucária. [alcinajeanevens@gmail.com](mailto:alcinajeanevens@gmail.com)

<sup>4</sup>Doutoranda, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil. Bolsista CAPES. [maeustachio1998@hotmail.com](mailto:maeustachio1998@hotmail.com)

<sup>5</sup>Doutora, Docente no Curso de Agronomia e do Programa de Pós-graduação em Tecnologias Limpas, Universidade Cesumar - UNICESUMAR. Pesquisadora do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI. [edneia.paccola@unicesumar.edu.br](mailto:edneia.paccola@unicesumar.edu.br)

<sup>6</sup>Doutora Orientadora, Docente no Curso de Agronomia e do Programa de Pós-graduação em Tecnologias Limpas, Universidade Cesumar - UNICESUMAR. Pesquisadora do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI. [francielli.gasparotto@unicesumar.edu.br](mailto:francielli.gasparotto@unicesumar.edu.br)

## RESUMO

No Estado do Paraná, a cana-de-açúcar é cultivada na região noroeste, caracterizada pela presença de solos arenosos, mais susceptíveis a processos erosivos e lixiviação de nutrientes. Este setor é destaque na economia brasileira, mas precisou se reinventar ao longo dos anos, adotando práticas sustentáveis como o reaproveitamento de água e resíduos, como a vinhaça e a torta de filtro. A vinhaça é um resíduo líquido resultante da produção de etanol, tendo como destino sua aplicação no solo devido sua concentração de nutrientes e matéria orgânica, porém ainda são escassos os trabalhos sobre o impacto desta sobre os microrganismos do solo. Assim, objetiva-se avaliar os indicadores microbiológicos de qualidade de solo em solos arenosos cultivados com cana submetidos ou não a fertirrigação de vinhaça. Para isto, duas áreas serão georreferenciadas com 24 pontos cada, sendo uma área fertirrigada com vinhaça e a outra não. Serão realizadas duas coletas de solo, outono e primavera. Os parâmetros avaliados serão os teores de carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, respiração basal, quociente metabólico e a atividade enzimática por meio das enzimas fosfatase ácida e  $\beta$ -glicosidase. Os resultados obtidos serão submetidos ao teste de homogeneidade e a análise de variância, se necessário, as médias serão comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Espera-se com esse trabalho, retratar o impacto da aplicação da vinhaça na saúde de solos arenosos e assim auxiliar na tomada de decisão sobre práticas de manejo na busca da sustentabilidade do cultivo de cana no arenito paranaense.

**PALAVRAS-CHAVE:** Agricultura sustentável; Qualidade de solo; Setor sucroenergético.

## 1 INTRODUÇÃO

O cultivo da cana-de-açúcar foi beneficiado pela Revolução Verde, que permitiu o desenvolvimento de variedades e clones mais produtivos e adaptados ao ambiente, além do uso de agrotóxicos, fertilizantes, entre outros insumos. As lavouras de cana-de-açúcar são caracterizadas pela monocultura, devido à natureza semiperene da cultura, que possibilita mais de uma colheita por área de cultivo. O setor sucroenergético é capaz de produzir açúcar, etanol, energia, além de aproveitar subprodutos do processo produtivo (GARCIA; LIMA; VIEIRA, 2015).

O processo de produção do etanol gera diversos resíduos, como vinhaça, torta de filtro e água de lavagem. A geração desses resíduos representa um desafio para o setor sucroenergético, que vem adotando a adubação das lavouras de cana-de-açúcar com vinhaça como forma de mitigar os impactos ambientais. Essa prática constitui uma alternativa à adubação química convencional, visto que a vinhaça apresenta elevados



teores de potássio (K), nitrogênio (N), cálcio (Ca) e matéria orgânica, podendo ser utilizada como fertilizante na agricultura (SILVA JUNIOR et al., 2022). Estima-se que para cada litro de etanol produzido, são gerados aproximadamente 13,7 litros de vinhaça (GASPAROTTO et al., 2019).

Os indicadores microbiológicos de qualidade do solo podem ser mensurados por meio dos teores de carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, que representam a fração viva da matéria orgânica do solo e atuam como reservatório de nutrientes para as plantas (PEREZ; RAMOS; MCMANUS, 2005).

Solos arenosos, com mais de 50% de areia e menos de 20% de argila, apresentam baixos teores de matéria orgânica, o que acarreta limitações para o uso agrícola, tais como problemas de fertilidade, alta suscetibilidade à erosão, baixa retenção hídrica e maior lixiviação de nutrientes, reduzindo o potencial produtivo. A baixa concentração de matéria orgânica prejudica a dinâmica e a interação entre os atributos de qualidade do solo (CAETANO et al., 2013; SILVA et al., 2021).

Quando se fala em qualidade do solo, refere-se à interação entre atributos químicos, físicos e biológicos, sendo a matéria orgânica o componente primordial para sua obtenção. Solos arenosos tendem a apresentar baixos teores de matéria orgânica, o que afeta diversos cultivos agrícolas, inclusive a cana-de-açúcar, cultivada na região noroeste do Paraná, caracterizada por solos de textura arenosa. Assim, estudos que investiguem indicadores microbiológicos de qualidade em solos arenosos, em áreas agrícolas com cultivo comercial de cana-de-açúcar submetidas à fertirrigação com vinhaça, são fundamentais para compreender a dinâmica microbiana em solos com baixos teores de argila e matéria orgânica.

Este trabalho tem como objetivo avaliar os indicadores microbiológicos de qualidade de solos arenosos em área cultivada com cana-de-açúcar submetida ou não à fertirrigação com vinhaça.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo será conduzido na região Noroeste do Estado do Paraná, no município de Presidente Castelo Branco (23°11'29.4"S e 52°05'59.0"W), em lavoura comercial de cana-de-açúcar cultivada sobre ARGISSOLO VERMELHO distrófico, sob manejo de uma usina sucroenergética local, responsável por todas as práticas de cultivo e tratamento da área.

Para a amostragem, a usina disponibilizará duas áreas distintas: uma submetida à fertirrigação com vinhaça e outra sem aplicação desse resíduo. Em cada área serão georreferenciados 24 pontos dispostos em grid, distribuídos igualmente nos terços superior, médio e inferior do terreno. As coletas ocorrerão em duas épocas: primavera de 2024 e outono de 2025.

As amostras de solo serão processadas e analisadas no Laboratório de Análises Agronômicas – AGROLAB, da Universidade Cesumar, campus Maringá. A determinação do carbono e nitrogênio da biomassa microbiana seguirá o método de fumigação-extração descrito por Vance, Brookes e Jenkinson (1987), no qual a microflora do solo é eliminada nas amostras fumigadas e preservada nas não fumigadas, utilizando clorofórmio e água, respectivamente.

O procedimento será realizado em duplicata para cada ponto amostral. Serão pesados 20 g de solo por béquer, divididos entre amostras fumigadas e não fumigadas. As amostras fumigadas serão acondicionadas em dessecador, juntamente com béquer contendo clorofórmio, submetidas a vácuo e mantidas no escuro por 18 horas, permitindo a liberação da biomassa microbiana. As amostras não fumigadas seguirão o mesmo processo, substituindo-se o clorofórmio por água.



Na etapa de extração, o solo será transferido para erlenmeyers contendo 80 mL de solução de  $K_2SO_4$  0,5 M (pH 6,5–6,8), agitado por 60 minutos a 200 RPM, centrifugado por 8 minutos e filtrado, obtendo-se o extrato de solo.

A quantificação do carbono da biomassa microbiana será realizada por titulometria. Para isso, serão misturados 8 mL do extrato de solo, 2 mL de dicromato de potássio 0,066 mol  $L^{-1}$  e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Após resfriamento, serão adicionados 80 mL de ácido ortofosfórico 6,25% e três gotas de solução de difenilamina a 1%, prosseguindo-se com titulação por sulfato ferroso amoniacal 0,03 N até a mudança de coloração para verde.

A quantidade de carbono das amostras fumigadas e não fumigadas será então calculada segundo a fórmula (1).

$$(\mu\text{g C/ g solo}) = \frac{(V_2 - V_1) \times N \times 0,003 \times 80 \times 10^6}{8 \times P_{ss}} \quad (1)$$

E o carbono da biomassa microbiana foi calculado empregando-se a fórmula 2:

$$C\text{-BMS } (\mu\text{g de C (g de solo seco)}^{-1}) = C_f - C_{nf} / K_e \quad (2)$$

Para determinação do nitrogênio da biomassa microbiana, serão adicionados 20 ml do extrato em tubos de ensaio, 0,5 g de catalisador (sulfato de cobre e sulfato potássio na proporção 1:10) e 1 ml de ácido sulfúrico concentrado, para digestão até 350 °C. Após o resfriamento das amostras, completar o volume com água destilada para 15 ml, ajustar o pH entre 3,0 e 4,0.

Em seguida, para realização da leitura colorimétrica, adicionar 1 ml do resultado da digestão sulfúrica com pH corrigido, adicionar 6 ml de água destilada, 1 ml de solução de ácido salicílico 5%, 1 ml de solução de nitroprussiato de sódio 0,1% e 1 ml de solução de hipoclorito de sódio 0,1%, agitar as amostras e realizar a leitura espectrofotômetro UV-Vis à 697 nm (KEMPERS; ZWEERS, 1986).

O teor de nitrogênio da biomassa microbiana foi calculado empregando-se a fórmula 3:

$$N\text{-BMS } (\mu\text{g de N (g de solo seco)}^{-1}) = N_f - N_{nf} / K \quad (3)$$

Para determinação da respiração basal do solo (RBS) serão pesadas 50g de solo, de cada amostra, em frascos de vidro com tampa hermética de 100 ml, e em duplicata. Para cada amostra serão pipetados 10 ml de hidróxido de sódio (NaOH) 1 M em béqueres de 30ml, transferindo-o de imediato para o interior dos frascos com o solo já pesado, fechará com a tampa e será vedado com plástico filme para que não haja entrada de gás carbônico ( $CO_2$ ) externo ou fuga do gás carbônico  $CO_2$  ( $CO_2$ ) interno. Como método de controle será usado frascos brancos, efetuando o mesmo procedimento descrito anteriormente, em frascos que contenham apenas os reagentes, sem o solo.

As amostras e o controle serão incubados entre 28 C° e 25 C°, em local isento de luminosidade por um período de 10 dias. Após a incubação, será retirado os frascos contendo o hidróxido de sódio (NaOH) e adicionar 2 ml de cloreto de bário ( $BaCl_2$ ) a 10% (m/v) para completa precipitação; então, adicionar 2 gotas de fenolftaleína 1% (m/v) e será titulado sob agitação magnética com a solução de ácido clorídrico (HCl) a 0,5 M padronizada, ao final da titulação a coloração da solução irá de rosa à incolor.

Após o período experimental a respiração basal o cálculo foi realizado por meio da fórmula 4:

$$RBS \text{ (mg C de } CO_2 \text{ kg}^{-1} \text{ solo hora}^{-1}) = \{[(V_b - V_a) \cdot M \cdot 6 \cdot 1000] / P_s\} / T \quad (4)$$



E o quociente metabólico das amostras de solo em tratamento foi determinado por meio da fórmula 5:

$$q\text{CO}_2 \text{ (mgC-CO}_2\text{.g-1BMS-C.h}^{-1}\text{)} = \frac{\text{RBS(mgC-CO}_2\text{.kg}^{-1} \text{ solo.h}^{-1}\text{)}}{\text{BMS - C (mgC.kg}^{-1} \text{ solo).10}^{-3}} \quad (5)$$

A atividade da enzima fosfatase ácida será realizada a partir de 1 grama de solo das amostras, em erlenmeyer, adicionando-se 4 mL de tampão da fosfatase ácida com pH de 5,5, 0,25 ml de tolueno ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ ), 1 ml da solução do substrato p-nitrofenil fosfato ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_6\text{P}$ ), conforme descrito por Tabatabai (1994). Os frascos serão agitados, posteriormente tampados com papel alumínio e colocados para incubar por 60 minutos a 37 °C. A reação é evidenciada pela produção de p-nitrofenol ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_3$ ) de coloração amarelada, após a hidrólise do substrato p-nitrofenil fosfato. Depois do período de incubação, os erlenmeyers serão abertos, e neles adicionados 1 ml da solução de cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) a 0,5 M e 4 ml da solução de hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ) a 0,5 M. Posteriormente, os frascos deverão ser agitados, e as amostras filtradas em papel filtro (Whatman N° 1). A leitura da absorbância será feita em espectrofotômetro ultravioleta visível à 400 nm e a atividade enzimática expressa em  $\mu\text{g}$  p-nitrofenol h-1 g-1 solo, conforme a fórmula 6.

$$\mu\text{g p-nitrofenol h-1 g-1 solo} = \frac{(A - B) \times F \times D}{M \times MS} \quad (6)$$

A determinação da enzima  $\beta$ -glicosidase será feita pelo método comparativo entre amostras de solo com substrato e sem substrato (branco), como no método realizado por Tabatabai (1994). Em seguida, as amostras serão incubadas a 37°C por 1 hora.

Chegado o final do tempo de incubação, as amostras serão destampadas para adicionar 1 mL da solução de cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) a 0,5 M e 4 mL da solução Tris (Hidroximetil) Aminometano (THAM) a 0,1 M e pH 12. Os tubos vão ser tampados e novamente passados em vórtex para agitar a amostra e aguardar 10 minutos para a decantação do solo. Passado o tempo de decantação, as amostras ainda em tubo falcon serão centrifugadas a 300 RPM por 5 minutos. Enfim, as amostras podem ser filtradas em papel Whatman 1. Com isso, as amostras podem ser encaminhadas para leitura em espectrofotômetro ultravioleta visível a 410 nm.

A determinação das amostras sem substrato (branco) segue praticamente o mesmo protocolo das amostras com substrato, com uma única diferença para que, a 1 mL da solução 4-nitrofenil- $\beta$ -glicosídeo a 0,05 M, seja adicionada nas amostras sem substrato somente após a incubação por 1 hora à 37°C.

Os resultados obtidos serão submetidos ao teste de homogeneidade e a análise de variância, se necessário, as médias serão comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade pelo software estatístico Sisvar.

### 3 RESULTADOS ESPERADOS

Espera-se que este estudo contribua para elucidar os efeitos da aplicação de vinhaça na saúde de solos arenosos, oferecendo uma base técnica sólida para a adoção de práticas de manejo que promovam a sustentabilidade do cultivo de cana-de-açúcar no Arenito Paranaense. Os resultados deverão fornecer evidências sobre a eficiência da vinhaça como insumo na manutenção e melhoria dos atributos biológicos, químicos e físicos do solo, além de identificar indicadores sensíveis capazes de refletir alterações na qualidade edáfica. Tais indicadores poderão servir como parâmetros de monitoramento em larga escala, auxiliando na avaliação contínua da qualidade ambiental e produtiva das áreas agrícolas, e



fortalecendo estratégias integradas de manejo conservacionista que conciliam produtividade e preservação dos recursos naturais.

## REFERÊNCIAS

CAETANO, J. O. et al. Dinâmica da matéria orgânica de um neossolo quartzarênico de cerrado convertido para cultivo em sucessão de soja e milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, n. 5, 2013.

GARCIA, J. R.; LIMA, D. A. L. L.; VIEIRA, A. C. P. A nova configuração da estrutura produtiva do setor sucroenergético brasileiro: panorama e perspectivas. **Revista de Economia Contemporânea**, v. 19, n. 1, 2015.

GASPAROTTO, F. et al. Setor sucroenergético e estratégias microbiológicas para mitigação dos impactos ambientais da aplicação da vinhaça. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 1, 2019.

KEMPERS, A. J.; ZWEERS, A. Ammonium determination in soil extracts by the salicylate method. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 17, n. 7, 1986.

PEREZ, K. S. S.; RAMOS, M. L. G.; MCMANUS, C. Nitrogênio da biomassa microbiana em solo cultivado com soja, sob diferentes sistemas de manejo, nos Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 2, 2005.

SILVA, P. L. F. et al. Qualidade física de solo arenoso em ambiente semiárido sob sistema de integração lavoura-pecuária. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 15, n. 4, 2021.

SILVA JUNIOR, O. et al. Inoculação de *Azospirillum brasilense* via vinhaça no cultivo de alface. **Enciclopédia Biosfera**, v. 19, n. 42, 2022.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: WEAVER, R. W.; SCOTT, A.; BOTTOMELEY, P. J. Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties. **Soil Science Society of America**, p. 777, 1994.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 19, n. 6, 1987.