



## Atividade das enzimas urease e arginase à adição de nitrogênio na cultura do milho, sob dois sistemas de manejo do solo no cerrado <sup>(1)</sup>.

Caroline dos Santos Martins Guieiro <sup>(2)</sup>; Bianca Gonçalves Camilo <sup>(2)</sup>; **Ketleyn Karolline Barbosa dos Santos** <sup>(2)</sup>; Mônica Matoso Campanha <sup>(3)</sup>; Flávia Cristina dos Santos; Ivanildo Evódio Marriel <sup>(3)</sup> <sup>(4)</sup>.

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos da EMBRAPA; CNPq e FAPEMIG.

<sup>(2)</sup> Graduanda em engenharia ambiental; Centro universitário de Sete Lagoas - UNIFEMM; Sete Lagoas, MG; carolguieiro@hotmail.com; <sup>(3)</sup> Pesquisador; Embrapa Milho e Sorgo; <sup>(4)</sup> Professor; Universidade Federal de São João Del Rei.

**RESUMO:** No Brasil as atividades antrópicas relacionadas com o uso e manejo do solo representam componente importante na emissão de gases de efeito estufa (GEE). O objetivo desse trabalho foi avaliar a dinâmica de nitrogênio no solo através da atividade das enzimas urease e arginase, sob diferentes sistemas de manejo, como parte de projeto que procura quantificar a emissão de GEE em sistemas agrícolas. Foram avaliadas amostras de solo coletadas em três épocas (15, 32 e 56 dias após o plantio), sob dois tipos de manejo (plantio convencional e plantio direto) na presença e ausência de adubação nitrogenada (0 e 225 kg/ha). O nitrogênio em cobertura foi aplicado em duas parcelas, aos 27 e 49 dias após o plantio. Utilizou-se o delineamento de blocos casualizados, com três repetições. Os resultados mostram alterações significativas para as atividades das enzimas urease e arginase, independente dos fatores estudados bem como para as interações analisadas. Os valores detectados oscilaram de 132,80 a 2036,6  $\mu\text{g N-NH}^{4+} \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$  solo, e 22,94 a 522,93  $\mu\text{g N-NH}^{4+} \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$  solo para a urease e arginase respectivamente. Conclui-se que as enzimas avaliadas foram sensíveis as alterações na qualidade do solo e estimuladas pelo aumento da disponibilidade de nitrogênio, evidenciando um comportamento indutivo.

**Termos de indexação:** GEE, dinâmica de nitrogênio, manejo agrícola.

### INTRODUÇÃO

As preocupações da comunidade científica e da sociedade em geral em relação às mudanças climáticas, que são problemas interligados de dimensões globais, tornaram-se emergenciais. Portanto, devem ser discutidas alternativas a fim de se desenvolver ações dirigidas para prevenção e controle das emissões de gases de efeito estufa (GEE) (Assad, 2015; Cavalcanti et al., 2014).

O setor agropecuário, em particular no Brasil, é visto como uma das principais atividades antrópicas responsáveis pelas emissões de GEE (Brasil, 2010)

sendo que o uso de fertilizantes nitrogenados responde por parcela significativa deste processo (Carvalho, 2009). Entretanto, a contribuição da agricultura depende da prática de manejo utilizada (Assad, 2015), por exemplo, a aplicação de fertilizante nitrogenado acima da demanda ótima da planta resulta em consequências ambientais significativas em razão de perda de nitrogênio através dos processos de lixiviação e emissão de gases de efeito estufa (Novoa et al., 2000; Mora et al., 2004; Alfaro et al., 2005; 2006).

De modo geral, a dinâmica de nitrogênio no ambiente é mediada por enzimas de origem microbiana. Dentre estas, destacam-se a urease, responsável pela hidrólise da ureia em dióxido de carbono e amônia, e a arginase, cuja atividade relaciona-se com nitrogênio (N) potencialmente mineralizável no solo (Kandeler & Gerber, 1988; Alef & Kleiner, 1986).

Segundo Andrews et al. (1989), a análise da arginase representa a população metabolicamente ativa, ou seja, nitrogênio potencialmente disponível às plantas; já a urease representa a população microbiana como um todo, sendo a hidrólise da ureia oriunda da aplicação de fertilizantes ou de ácidos nucléicos presentes no solo, liberando amônia e dióxido de carbono.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade das enzimas urease e arginase em solo de cerrado sob dois sistemas de manejo como parte de pesquisa visando quantificar a emissão de GEE em sistemas agrícolas no Brasil.

### MATERIAL E MÉTODOS

As amostras para análises enzimáticas foram coletadas em experimento instalado em novembro de 2014 em Latossolo Vermelho Distrófico (LVd), na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, (latitude 19°28'4" S, longitude 44°15'08" W e altitude média de 730 m).

Os tratamentos foram constituídos de: dois sistemas de manejo, plantio direto (SPD) e de convencional (SPC), na ausência e presença (SPD SPC e SPDN, SPCN) de adubação nitrogenada,



alem de área sob cerrado natural utilizado como referência. Os tratamentos foram dispostos em delineamento em blocos casualizados, com três repetições. No plantio foi efetuada uma adubação à base de 400 kg/ha da formulação NPK 4-28-16. O nitrogênio em cobertura, 225 kg/ha, foi aplicado em duas parcelas, aos 27 e 49 dias após o plantio.

Aos 15, 32 e 56 dias após o plantio foram efetuadas coletas de amostras de solo para análise da atividade das enzimas urease e arginase.

A atividade da urease foi determinada por meio da quantificação de amônio liberado pela hidrólise da uréia utilizando-se o método colorimétrico preconizado por Kandeler & Gerber (1988). Amostras de 0,5 g do substrato foram tratadas com 0,25 mL de solução de uréia (4,8 g/L) e incubadas por uma hora à 37°C. Após a incubação, adicionou-se 5 ml de solução de KCl, 1 M em cada amostra que ficaram 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 atividade da arginase foi determinada por meio da quantificação de amônio liberado pela hidrólise da arginina utilizando-se o método colorimétrico de Alef & 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. Após a incubação, adicionou-se 4 mL de solução de KCl, 1 M em cada amostra que ficaram 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 660nm.

Os dados obtidos, expressos em  $\mu\text{g N-NH}^{4+} \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$  substrato, foram comparados por meio do teste de TUKEY, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa de estatística SISVAR.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado obtido para a atividade da enzima urease em amostras de solo sob sistema de plantio direto e convencional, em diferentes épocas de avaliação estão apresentados na (figura 1), com valores variando de  $132,80 \mu\text{g N-NH}^{4+} \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$  solo e  $2036,6 \mu\text{g N-NH}^{4+} \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$  solo independente dos fatores estudados. Observou-se que a atividade desta enzima apresentou variação significativa ( $P \leq 0,05$ ) em função de manejo, nitrogênio e época, bem como para as interações entre esses fatores.

Entretanto, independente do tipo de manejo, notou-se que a influência do nitrogênio aplicado em

cobertura sobre a urease foi detectada somente aos 56 dias após o plantio. Vale salientar que a resposta da enzima ao aumento da disponibilidade de N foi observada a partir do quinto dia após a aplicação da primeira parcela de N, aos 32 dias após o plantio. Esse resultado, em parte, pode ser explicado pela época de aplicação da adubação nitrogenada. Por outro lado, em ambos os sistemas de manejo, convencional e plantio direto, não se detectaram diferenças entre épocas, na ausência da adubação nitrogenada.

A atividade da urease foi semelhante à atividade da arginase. Pode se observar que a arginase foi influenciada somente pela adição da adubação nitrogenada na última época avaliada, porém apresentou valores em torno de quatro vezes inferior aos encontrados para urease (figura 2).

Quando se comparou os diferentes sistemas de manejo com o cerrado, considerado como o ecossistema de referência, foram encontrados reduções para a atividade da urease, variando de 27% a 116%, nos agroecossistemas, em função da época de avaliação após o plantio (15 e 32 dias).

Os resultados sugerem um comportamento indutivo para ambas as enzimas, uma vez que houve resposta significativa da atividade enzimática ao aumento da disponibilidade de nitrogênio. É sabido que alteração na atividade da urease pode ser usada como indicador indireto da variação no *pool* do nitrogênio potencialmente disponível no solo. Do mesmo modo é bem conhecido que a atividade da urease é influenciada por vários fatores incluindo tipo do solo, teor de matéria orgânica, umidade, pH, temperatura e principalmente a quantidade de nitrogênio adicionada (Yadav et al., 1987; Cabrera et al., 2005; Wang et al., 2004).

Esse fato torna-se importante uma vez que a melhor compreensão do processo de mineralização do fertilizante nitrogenado na fase de uréia contribui para o desenvolvimento de estratégia para aumentar a eficiência do uso de fertilizante nitrogenado e minimizar seu impacto negativo no ambiente (Cartes et al., 2009).

## CONCLUSÕES

As atividades das enzimas urease e arginase foram sensíveis às variações da qualidade do solo independente do sistema de manejo e adubação nitrogenada utilizada.

O comportamento das enzimas urease e arginase no solo variou em função da disponibilidade de nitrogênio.

Houve resposta da atividade de ambas as enzimas ao aumento do suprimento de nitrogênio, dependendo da época de aplicação.

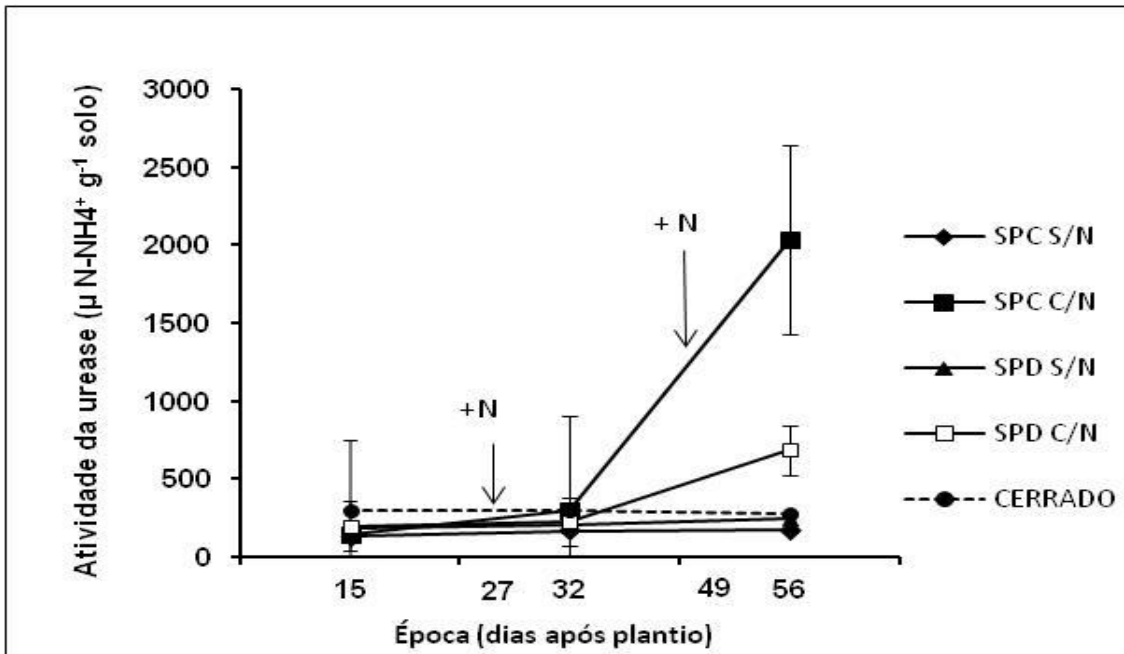


## AGRADECIMENTOS

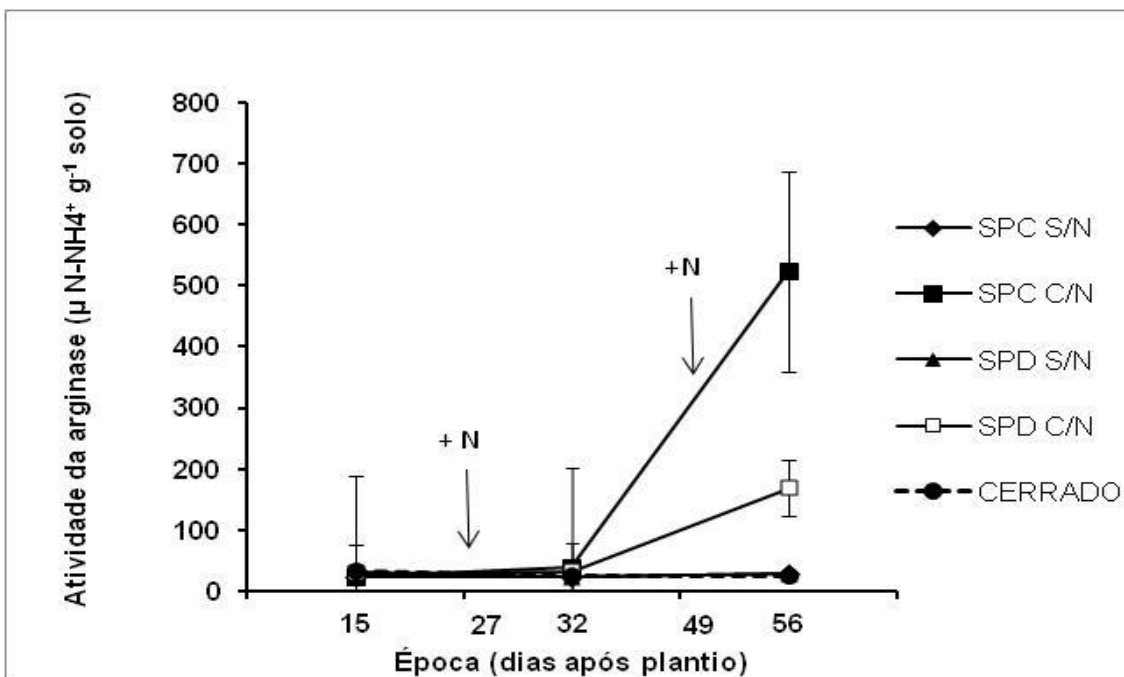
Agradecemos à Embrapa Milho e Sorgo, CNPq e FAPEMIG, pelo apoio financeiro para a execução do projeto.

## REFERÊNCIAS

- ALEF, K. & KLEINER, D. Arginine ammonification, a simple method to estimate microbial activity potential in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, 18: 233-235, 1986.
- ALFARO, M.; SALAZAR, F.; IRAIRA, S.; TEUBER, N.; RAMÍREZ, L. Nitrogen runoff and leaching losses in beef production systems under two different stocking rates in Southern Chile. *Gayana Bot.*, v. 62, p. 130-138, 2005.
- ALFARO, M.V.; SALAZAR, F.S.; ENDRESS, D.B.; DUMONT, J.C.L.; VALDEBENITO, A.B. Nitrogen leaching losses on a volcanic ash soil affected by the source of fertiliser. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 6, p. 54-63, 2006.
- ANDREWS, R. K.; BLAKERLEY, R. L.; ZERNER, B. Urease: a Ni (II) metalloenzyme. In: LANCASTER, J. R. (Ed.). *The biorganic chemistry of nickel*. New York: VCH Publisher, 1989. p. 141-166.
- ASSAD, E. D. ABC. Observatório agricultura de baixo carbono. Agricultura de Baixa Emissão de Carbono: a evolução de um novo paradigma. Disponível em: [https://s3-sa-east1.amazonaws.com/arquivos.gvces.com.br/arquivos\\_gvces/arquivos/275/abc\\_novoparadigma\\_completo.pdf](https://s3-sa-east1.amazonaws.com/arquivos.gvces.com.br/arquivos_gvces/arquivos/275/abc_novoparadigma_completo.pdf). Acessado em: 20 abr.2015.
- BRASIL, Ministério da Ciência e Tecnologia. Inventário brasileiro das emissões e remoções antrópicas de gases de efeito estufa: informações gerais e valores preliminares (30 de novembro de 2010). Disponível em: [http://ecen.com/eee75/eee5p/inventario\\_emissoes\\_brasil.pdf](http://ecen.com/eee75/eee5p/inventario_emissoes_brasil.pdf). Acessado em: 18 abr. 2015.
- CABRERA, M.L.; KISSEL, D.E.; VIGIL, M.F. Nitrogen mineralization from organic residues: Research opportunities *J. Environ. Qual.*, v. 34, p. 75-79, 2005.
- CARTES, P.; JARA, A.A.; DEMANET, R.; MORA, M. L. Urease activity and nitrogen mineralization kinetics as affected by temperature and urea input rate southern Chilean andisols. *Soil Sc. Plant Nutr.*, v. 9, p. 69-82, 2009.
- CARVALHO, G. D. Agricultura e aquecimento global: efeitos e mitigação. *Enciclopédia biosfera - suplemento especial*, Goiânia, 5: 127 -145 n. 8, 2009.
- CAVALCANTE, E.; OLIVEIRA, W.R.D.; CARVALHO, A.M.; SILVA, R.R.; TIMÓTEO, L.G.; COSER, T.R.; RAMOS, M.L.G.; CARNEIRO, R. ; MELO, C. ; ZANSÁVIO, A.M.O. Emissão de N<sub>2</sub>O em sistemas de integração lavoura pecuária – floresta e integração lavoura pecuária. In: XX Congresso Latinoamericano y XVI Congreso Peruano de la Ciencia del Suelo. Cusco – Perú. 9 al 15 de Noviembre. 2014.
- KANDELER, E. & GERBER, H. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, 6: p. 68-72, 1988.
- MORA, M.L.; ORDONEZ, C.; CARTES, P.; VISTOSO, E.; PINO, J.; JARA, A.; DEMANET, R. Reciclaje de nitrógeno proveniente de purines en una pastura de Lolium perenne L. In: MORA M.L. Simposio de las Ciencias del Suelo: Residuos orgánicos y su uso en sistemas agroforestales. Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. Temuco, Chile. Universidad de La Frontera. p. 243-256, 2004.
- NOVOA, S.A.; GONZALEZ, R.; NOVOA, S.; ROJAS, R. Inventario de gases com efecto emitidos por la actividad Agropecuária chilena. *Agric. Tec.*, 60: 154 - 165, 2000.
- WANG, W.J.; SMITH C.J.; CHEN, D. Predicting soil nitrogen mineralization dynamics with a modified double exponential model. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 68 : 1256-1265, 2004.
- YADAV, D.S.; KUMAR, V.; SINGH, M.; RELAN P.S. Effect of temperature and moisture on kinetics of urea hydrolysis and nitrification. *Aust. J. Soil Res.*, 25: 185-191, 1987.



**Figura 1** - Atividade da urease em amostras de solo de cerrado sob plantio direto (SPD) e plantio convencional (SPC) com e sem N em cobertura (C/N e S/N), em três épocas. Valores médio de três repetições.



**Figura 2** - atividade da arginase, em amostras de solo de cerrado sob plantio direto (SPD) e plantio convencional (SPC) com e sem N em cobertura (C/N e S/N) três épocas. Valores médios de três repetições.