

Atividade da Urease e Arginase em Solos com Diferentes Tratamentos sob o Sistema de Integração Lavoura-Pecuária na região do Cerrado¹

Aline Martineli Batista², Ivanildo Evódio Marriel³, Miguel Marques Gontijo³, Eduardo de Paula Simão⁴, Edson Aparecido dos Santos⁵, José Carlos Cruz³

¹Trabalho financiado pela Fapemig

² Estudante do Curso de Engenharia Agrônômica da Univ. Fed. de São João del-Rei, Bolsista PIBIC do Convênio Fapemig - Embrapa

³ Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo

⁴ Eng. Agrônomo, Bolsista de IC - Embrapa

⁵ Eng. Agrônomo, DS, Bolsista de pós doutorado PNPd/Capes-Finep/Embrapa

Introdução

A Integração Lavoura-Pecuária (ILP) consiste em sistemas produtivos que incentivam a diversificação, a rotação, a consorciação e a sucessão das atividades agrícolas e pecuárias dentro da propriedade rural de forma planejada, constituindo um mesmo sistema, onde há benefícios para ambas (ALVARENGA et al., 2007). Ela destaca-se como uma das tecnologias disponíveis para contribuir com a sustentabilidade da agropecuária moderna no Cerrado, importante para esta região devido aos seus solos altamente intemperizados, ácidos e pobres em nutrientes.

As atividades dos microrganismos no solo são influenciadas pelos diversos sistemas de uso e manejo do solo e são um importante indicativo de mudanças da qualidade dele. De acordo com Mendes e Reis Júnior (2004), todos os fatores que afetam negativamente os microrganismos e promovem perdas da matéria orgânica provocam, também, deterioração das propriedades químicas, físicas e biológicas do solo. Assim, a análise de atributos, como as enzimas oriundas de microrganismos, é um bioindicador importante para monitorar a qualidade biológica do solo, que por sua vez contribui para um sistema de produção sustentável nessa região.

As enzimas do solo participam das reações metabólicas intercelulares e são catalizadoras de várias reações que resultam na decomposição de resíduos orgânicos

(ligninases, celulases, proteases, glucosidases, galactosidases), ciclagem de nutrientes (fosfatases, amidases, sulfatases), formação da matéria orgânica e da estrutura do solo (MENDES; VIVALDI, 2001).

O nitrogênio é o nutriente mais exigido pelas plantas em termos quantitativos e representa a maior parcela dos custos de produção atribuída aos fertilizantes químicos (MARRIEL et al., 2008). Dentre as enzimas úteis como indicadoras da dinâmica e disponibilidade de nitrogênio no solo, estão a urease, responsável pela hidrólise da ureia em dióxido de carbono e amônia, e a arginase, cuja atividade relaciona-se com N potencialmente mineralizável no solo (KANDELER; GERBER, 1988; ALEF; KLEINER, 1986).

A urease é uma enzima extracelular produzida por bactérias, actinomicetos e fungos do solo ou originada de restos vegetais (REYNOLDS et al., 1987). A análise da atividade de urease no solo fornece uma indicação do potencial do solo em converter N orgânico em mineral, dando início ao processo de mineralização do N (FACCI et al., 2008).

A atividade da arginase reflete o N potencialmente mineralizável no solo (ALEF; KLEINER, 1986) e, segundo Andrews et al. (1989), representa a população metabolicamente ativa, ou seja, nitrogênio potencialmente disponível às plantas; já a urease representa a população como um todo, sendo a hidrólise da ureia oriunda da aplicação de fertilizantes ou de ácidos nucleicos presentes no solo, liberando amônia e dióxido de carbono.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade das enzimas urease e arginase em diferentes tratamentos sob o sistema de ILP já implantado desde 2010.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no laboratório de Microbiologia da Embrapa Milho e Sorgo, na cidade de Sete Lagoas, MG, de junho a dezembro de 2013.

As amostras de solo foram retiradas nas profundidades de 0-20 cm e de 20-40 cm e nas posições linha e entrelinha, espaçadas em 45 cm, em áreas sob o sistema de ILP instalado em 2010, onde as culturas consistem em pastagem de braquiária, sistema Santa-Fé (milho + braquiária), milho solteiro e soja solteira. O experimento foi disposto em delineamento de blocos casualizados, com 25 parcelas experimentais cada e três repetições, totalizando 75 unidades experimentais. Estes tratamentos foram alternados,

anualmente, em cada parcela experimental (Tabela 1). Como referência, foi utilizado o solo do Cerrado.

A atividade da urease foi determinada através da quantificação de amônio liberado pela hidrólise da ureia durante um período de incubação com ureia, sem tolueno, utilizando-se o método colorimétrico proposto por Kandeler e Gerber (1988). Amostras de 0,5 g do 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, adicionaram-se 5 ml de solução de KCl, 1 M em cada amostra que ficou sob agitação durante 30 minutos. Uma alíquota de 100µl do sobrenadante de cada amostra foi retirada e misturada a 1,0 mL da solução de reagentes para colorimétrica. Após uma hora, fez-se a leitura no espectrofotômetro a 660 nm.

A atividade da arginase foi determinada através da quantificação de amônio liberado pela hidrólise da arginina durante um período de incubação do solo com arginina, utilizando-se o método colorimétrico preconizado por Alef e Kleiner (1986). Amostras de 1,0 g do solo foram tratadas com 0,25 mL de solução de L-arginine (0,2 g/L) e incubadas por duas horas, a 37 °C. Após a incubação, adicionaram-se 4 mL de solução de KCl, 1 M em cada amostra que ficou sob agitação durante 30 minutos. Uma alíquota de 100µl do sobrenadante de cada amostra foi retirada e misturada a 1,0 mL da solução de reagentes para colorimétrica. Após uma hora, fez-se a leitura no espectrofotômetro a 660 nm.

A quantidade de amônio presente nas amostras, tanto para urease quanto para arginase, foi estimada por meio de uma curva padrão com cloreto de amônio, com os níveis de 0, 5, 10,15 e 20 µg de NH_4^+ mL^{-1} . Os dados obtidos, expressos em $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$ substrato, foram submetidos à análise de variância comparados por meio do teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

O pacote estatístico utilizado para análise de experimentos foi o SISVAR – Sistema de Análise de Variância – da Universidade Federal de Lavras (FERREIRA, 2000).

Resultados e Discussão

A atividade enzimática da urease e da arginase não apresentou diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$) em relação aos tratamentos (Tabela 2), o que indica que eles não diferem entre si quanto à dinâmica de nitrogênio. Entretanto, os valores

observados para os tratamentos foram em torno de 68,8% do detectado para o ecossistema Cerrado, indicando alteração na qualidade do solo em função da modificação do manejo e uso do solo.

Ambas as enzimas também não apresentaram diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$) em sua atividade, em relação à posição linha e entrelinha, provavelmente em função do espaçamento utilizado (45 cm) ser reduzido. Sendo que a atividade da urease teve média de $160,312 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$ substrato na linha e $157,369 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$ substrato na entrelinha e a arginase teve média de $8,329 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$ substrato na linha e $7,918 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$ substrato na entrelinha.

A atividade enzimática em diferentes profundidades apresentou diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$), tanto para a urease quanto para a arginase. A maior atividade da enzima urease ocorreu em profundidade de 20-40 cm, onde teve média de $169,723 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$ substrato, enquanto na profundidade de 0-20 cm sua atividade teve média de $147,958 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$ substrato. E a maior atividade da arginase foi verificada em profundidade de 0-20 cm onde teve média de $8,966 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$ substrato, enquanto sua atividade na profundidade de 20-40 cm apresentou média de $7,281 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$ substrato. O esperado seria que ambas as enzimas apresentassem maiores atividades na superfície, onde há maior quantidade de microrganismos devido à prevalência de condições de aerobiose nesta região.

Não foi observada diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$) na maioria das interações avaliadas: posição e profundidade; posição e tratamento; profundidade e tratamento; e posição, profundidade e tratamento. Apenas a enzima urease apresentou diferença significativa ($P \leq 0,05$) em relação a interação entre profundidade e tratamento (Figura 1 e 2). No desdobramento de tratamento dentro de cada nível de profundidade, os tratamentos apresentaram significância apenas na profundidade de 20-40 cm, não obtendo diferença entre os tratamentos na profundidade de 0-20 cm e apresentando valores maiores para os tratamentos 15, 11, 13, 14 e 17 dentro da profundidade de 20-40 cm. Para o desdobramento de profundidade dentro de cada nível de tratamento, observou-se significância ($P \leq 0,05$) apenas para os tratamentos 2, 11, 13, 14, 16 e 17, sendo que 2, 11, 13, 14 e 17 apresentaram valores maiores na profundidade de 20-40 cm, enquanto o tratamento 16 apresentou maiores valores na profundidade de 0-20 cm.

A urease apresentou valores em torno de 10 vezes maiores do que os valores médios da arginase, este resultado, possivelmente, pode ser explicado pelo fato de a urease ser uma enzima extracelular que pode ser acumulada nos coloides do solo e de a

atividade da arginase depender da população microbiana metabolicamente ativa no momento em que foi feita a amostragem (ALEF; KLEINER, 1986; KANDELER; GERBER, 1988; BONDE, 2001).

Conclusão

Os resultados obtidos mostram que a consorciação e a rotação de culturas utilizadas no sistema Integração Lavoura-Pecuária, no prazo avaliado, não alteram a dinâmica de nitrogênio no solo e, conseqüentemente, a qualidade biológica do solo. Porém, quando os tratamentos são analisados utilizando como referência o ecossistema Cerrado, observa-se que há alteração na qualidade do solo em função da modificação do manejo e uso do solo.

A atividade da urease apresenta valores médios em torno de 10 vezes superiores aos observados para a enzima arginase.

Referências

- ALEF, K.; KLEINER, D. Arginine ammonification, a simple method to estimate microbial activity potential in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 18, n. 2, p. 233-235, 1986.
- ALVARENGA, R. C.; GONTIJO NETO, M. M.; RAMALHO, J. H.; GARCIA, J. C.; VIANA, M. C. M.; CASTRO, A. A. D. N. **Sistema de Integração Lavoura-Pecuária: o modelo implantado na Embrapa Milho e Sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2007. 9 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 93).
- 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.
- BONDE, T. A.; NIELSEN, T. H.; MILLER, M.; SORENSEN, J. Arginine ammonification assay as a rapid index of fross N mineralization in agricultural soils. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 34, p. 179-184, 2001.
- FACCI, L. D.; FREITAS, S. S.; DE MARIA, I. C. Atividade de urease e microrganismos sob diferentes usos de solo. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 28.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 12.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 10.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 7., 2008, Londrina. **Desafios para o uso do solo com eficiência e qualidade ambiental: anais**. Londrina: Embrapa Soja: SBCS: IAPAR: UEL, 2008. 1 CD-ROM. FertBio 2008.

FERREIRA, D. F. **Programa Sisvar**: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Lavras: UFLA, 2000. Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/~danielff/software.htm>>. Acesso em: 12 jan. 2014.

KANDELER, E.; GERBER, H. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 6, p. 68-72, 1988.

MARRIEL, I. E.; ADELÁRIO, F. M. S.; BORGES, A. L.; OLIVEIRA, A. A. N.; SILVA, U. C.; GUIMARAES, L. J. M. Variação da atividade de arginase e urease na rizosfera de genótipos de milho contrastantes no uso de nitrogênio. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 27.; SIMPOSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA-DO-CARTUCHO, SPODOPTERA FRUGIPERDA, 3.; WORKSHOP SOBRE MANEJO E ETIOLOGIA DA MANCHA BRANCA DO MILHO, 2008, Londrina. **Agroenergia, produção de alimentos e mudanças climáticas**: desafios para milho e sorgo: trabalhos e palestras. [Londrina]: IAPAR; [Sete Lagoas]: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 1 CD-ROM.

MENDES, I. de C.; REIS JÚNIOR, F. B. dos. **Uso de parâmetros microbiológicos como indicadores para avaliar a qualidade do solo e a sustentabilidade dos agroecossistemas**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2004. 34 p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 112).

MENDES, I. C.; VIVALDI, L. Dinâmica da biomassa e atividade microbiana em uma área sob mata de galeria na região do DF. In: RIBEIRO, J. F.; FONSECA, C. E. L. da; SOUSA-SILVA, J. C. (Ed.). **Cerrado**: caracterização e recuperação de matas de galeria. Planaltina, DF: Embrapa-CPAC, 2001. p. 664-687.

REYNOLDS, C. M.; WOLF, D. C.; ARMBRUSTER, J. A. Factors related to urea hydrolysis in soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 49, n. 1, p. 104-108, 1987.

Anexos

Tabela 1 - Distribuição e alternância dos tratamentos durante o período de 2010 a 2013, estabelecendo-se o sistema de Integração Lavoura-Pecuária.

Tratamento	Ano		
	2010/11	2011/12	2012/13
1	Milho	Milho	Milho
2	Santa-Fé	Santa-Fé	Santa-Fé
3	Soja	Soja	Soja
4	Pastagem	Pastagem	Pastagem
5	Santa-Fé	Soja	Santa-Fé
6	Soja	Santa-Fé	Soja
7	Santa-Fé	Pastagem	Santa-Fé

8	Pastagem	Santa-Fé	Pastagem
9	Santa-Fé	Pastagem	Pastagem
10	Pastagem	Santa-Fé	Pastagem
11	Pastagem	Pastagem	Santa-Fé
12	Soja	Santa-Fé	Pastagem
13	Santa-Fé	Pastagem	Soja
14	Pastagem	Soja	Santa-Fé
15	Soja	Santa-Fé	Pastagem
16	Santa-Fé	Pastagem	Pastagem
17	Pastagem	Pastagem	Soja
18	Pastagem	Soja	Santa-Fé

Tabela 2 – Atividade enzimática da urease e da arginase ($\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ substrato) nos tratamentos. Sete Lagoas, MG.

Tratamentos	Urease *	Arginase *
1	156,913a	7,696a
2	151,558a	8,236a
3	154,955a	7,494a
4	161,986a	8,928a
5	166,728a	8,081a
6	159,544a	8,549a
7	159,579a	9,028a
8	138,343a	8,333a
9	149,593a	8,267a
10	152,564a	8,329a
11	163,863a	8,766a
12	139,940a	7,724a
13	164,445a	7,627a
14	172,820a	7,223a
15	166,895a	7,049a
16	168,167a	7,933a
17	174,026a	9,108a
18	157,208a	7,855a

*médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

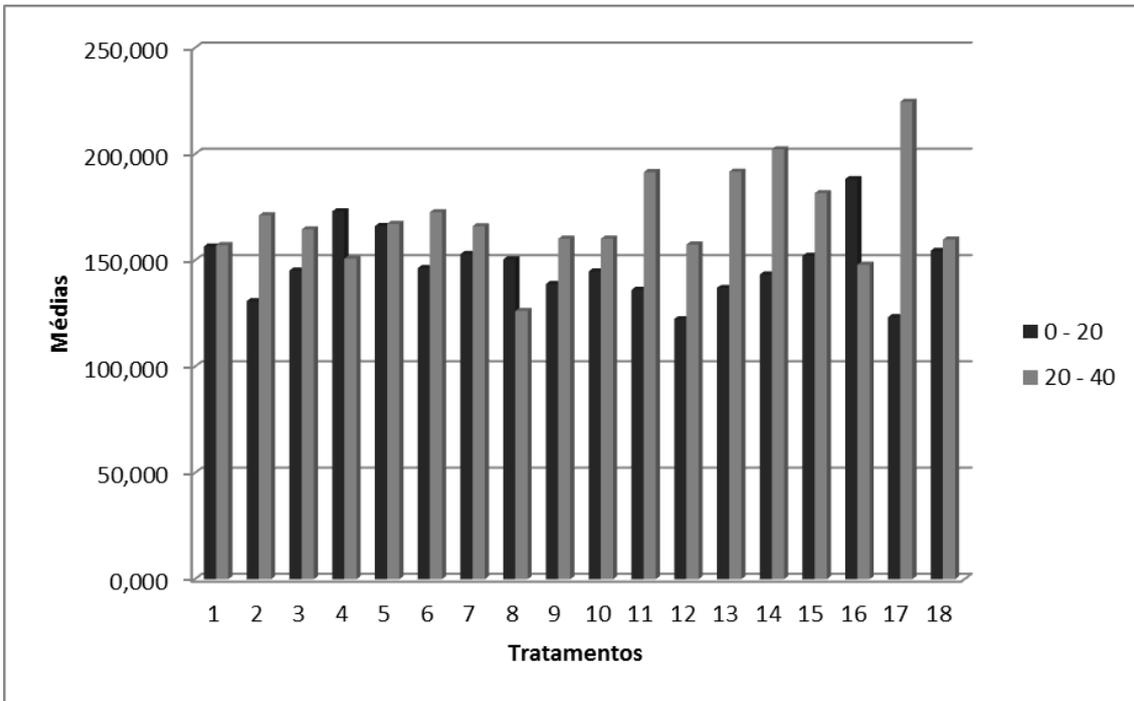


Figura 1 – Interação entre profundidade (0-20 e 20-40 cm) e tratamento (1 a 18) para a atividade média da enzima urease ($\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ substrato).

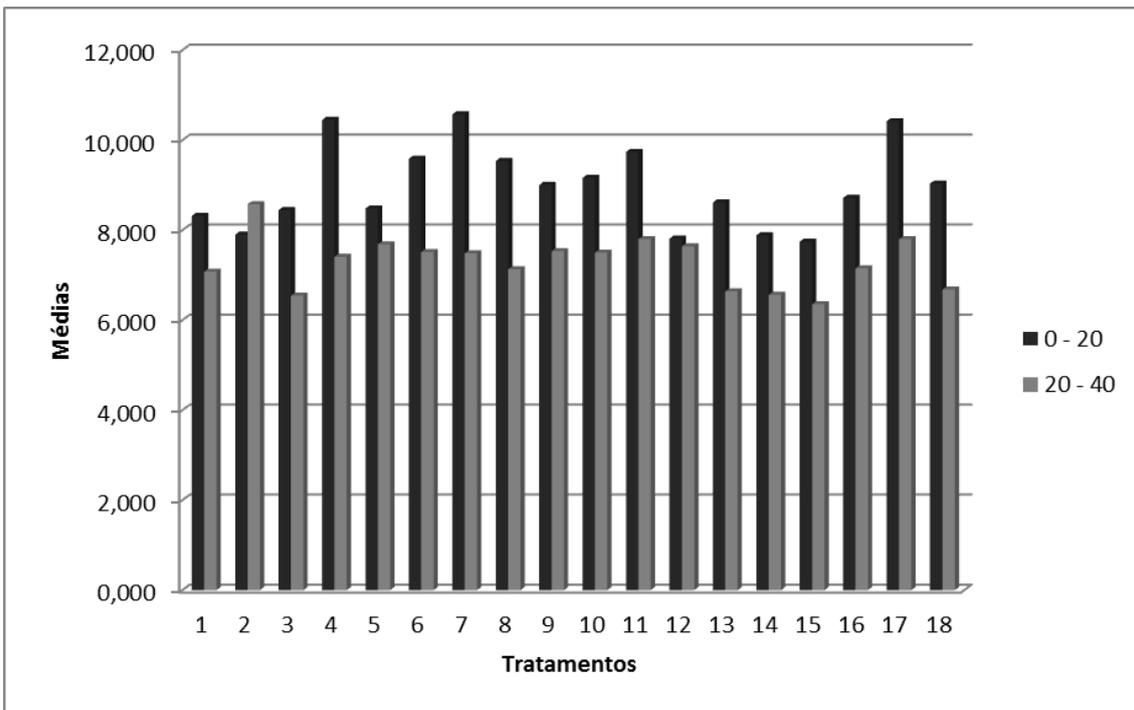


Figura 2 – Interação entre profundidade (0-20 e 20-40 cm) e tratamento (1 a 18) para a atividade média da enzima arginase ($\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ substrato).