04622 MFN 26988

#### **RENATO ROSCOE**

# ATIVIDADE DA UREASE EM UM LATOSSOLO VERMELHO ESCURO DE SETE LAGOAS-MG, CULTIVADO COM MILHO, SOB DIFERENTES MÉTODOS DE

## PREPARO DO SOLO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras-MG, como parte das exigências do curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Solos e Nutrição de Plantas, para a obtenção do título de "Mestre".

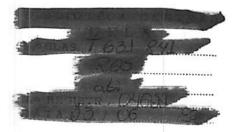
**Orientador:** 

## Dr. ANTÔNIO EDUARDO FURTINI NETO

Eduardo Furtini Neto. 1910 - UFLA

LAVRAS MINAS GERAIS - BRASIL

1997



## Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação da Biblioteca Central da UFLA

Roscoe, Renato

Atividade da urease em um latossolo vermelho escuro de Sete Lagoas -MG, cultivado com milho, sob diferentes métodos de preparo do solo / Renato Roscoe. -- Lavras: UFLA, 1997.

50 p. : il.

and the second

HOT W. C. MAN MODEL

Orientador: Antônio Eduardo Furtini Neto. Dissertação (Mestrado) - UFLA. Bibliografia.

1. Solo - Adubação nitrogenada. 2. Nitrogênio. 3. Urease. 4. Milho -Plantio Direto. 5. Latossolo vermelho escuro. 6. Uréia. 7. Hidrólise - uréia. 8. Enzima 9. Preparo do solo. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-631.841

#### **RENATO ROSCOE**

## ATIVIDADE DA UREASE EM UM LATOSSOLO VERMELHO ESCURO DE SETE LAGOAS-MG, CULTIVADO COM MILHO, SOB DIFERENTES MÉTODOS DE PREPARO DO SOLO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras-MG, como parte das exigências do curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Solos e Nutrição de Plantas, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 28 de fevereiro de 1997

Prof. Geraldo Aparecido de Aquino Guedes

vallo

/ Prof. Janice Quedes de Carvolho

Alberto y asconcellos

Dr. Antônio Eduardo Furtini Neto (Orientador)

Aos meus pais Márcio e Lêda,

A minha tia Maria,

Aos meus irmãos Eduardo, Leonardo e Andréa,

A minha cunhada Roselaine,

Ao meu sobrinho André,

Aos meus amigos,

DEDICO

### AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela oportunidade de realizar o curso e pelo financiamento dos estudos.

Aos professores Antônio Eduardo Furtini Neto e a Geraldo Aparecido de Aquino Guedes, pelos ensinamentos, amizade e orientação.

Ao Dr. Carlos Alberto Vasconcellos, pelos valiosos conselhos e amizade, além dos ensinamentos e orientação.

À professora Janice Guedes de Carvalho pela revisão e sugestões.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Centro Nacional de Pesquisa do Milho e Sorgo, pela oportunidade de desenvolvimento de trabalhos de campo e de laboratório.

A todos os professores do Departamento de Ciência do Solo pelos ensinamentos durante o curso.

Ao colega Luiz Arnaldo, pelos dados concedidos e grande colaboração.

Aos amigos e colegas de curso, pela amizade, companheirismo e agradável convívio.

## SUMÁRIO

.

## Página

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 A urease no solo	4
2.2 Fontes de urease	5
2.3 Atividade da urease no solo	5
2.4 Fixação da urease aos colóides do solo	8
2.5 Correlações com características fisicas, químicas e biológicas dos solos	10
2.6 Sistemas de preparo do solo	13
3 MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 Caracterização da área	16
3.2 Tratamentos	16
3.3 Coleta, preparo das amostras e determinações	18
3.4 Análises realizadas	19

## Página

3.5 Procedimentos estatísticos	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1 Atividade da Urease em Função das Épocas de amostragem	23
4.2 Atividade da Urease em Função das Profundidades de amostragem	27
4.3 Atividade da Urease e Produtividade do Milho	32
4.4 Correlações entre a Atividade da Urease e Propriedades do Solo	35
5 CONCLUSÕES	41
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
ANEXOS	49

## LISTA DE TABELAS

TABELAS	Página
1. Características químicas e fisicas do solo antes do plantio	17
2. Variáveis dependentes e independentes utilizadas no modelo proposto	22
3. Componentes utilizadas no modelo proposto	22
<ol> <li>Atividade média da urease (μg de NH4 /g de solo/hora), na profundidade de 0 - 40 cm, em função dos métodos de preparo do solo e das épocas de amostragem</li> </ol>	
<ol> <li>Atividade média da urease (µg de NH<sub>4</sub><sup>-</sup>/g de solo/hora), em função das doses de nitrogênio aplicadas, dos métodos de preparo do solo e das profundidades de amostragem</li></ol>	
<ol> <li>Atividade média da urease (em µg de NH₄<sup>*</sup>/g de solo/hora), em função dos métodos de preparo do solo e das profundidades de amostragem</li> </ol>	
7. Atividade média da urease (em µg de NH4 <sup>+</sup> /g de solo/hora), produção de matéria seca de plantas de milho (em Kg/ha) e produção de grãos de milho (em Kg/ha), em função das doses de nitrogênio aplicadas e dos métodos de preparo do solo	. 33

## **TABELAS**

## Página

8. Correlações entre atividade média da urease (em $\mu g$ de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /g de solo/hora), para as	
quatro épocas de amostragens, e produção de matéria seca total e de grãos de milho	
(Kg/ha)	33
9. Correlações entre atividade média da urease (em µg de NH47/g de solo/hora), em	
função da profundidade e algumas propriedades do solo	37
10. Equações de regressão linear múltipla, com acréscimo sequencial de variáveis,	
(Modelo Stepwise), para atividade da urease (AU) em função de N na biomassa	
(Nbiom), matéria orgânica do solo (MO), pH (pH), CTCefetiva (CTCe) e CTCtotal	
(CTCt)	38
11. Atividade da urease estimada a partir dos valores observados de N-biomassa,	
através das equações de regressão múltipla ajustadas para as profundidades de 0-7,5	
cm e 7,5-15 cm	40

## **LISTA DE FIGURAS**

F	FIGURA	Página
1	. Atividade média da urease, na profundidade de 0 - 40 cm, em função da dose de N	
	aplicada em cobertura e da época de amostragem: (a) Plantio Direto; (b) Arado de	
	Disco; (c) Arado de Aiveca; e em função dos métodos de preparo do solo e das épocas de amostragem (d).	-
	opeeus de unostrugen (d).	24
2	2. Atividade da urease em função da profundidade de amostragem e dose de nitrogênio	
	aplicada em cobertura: (a) Plantio Direto; (b) Arado de Disco; (c) Arado de Aiveca;	
	e em função da profundidade, para as médias das doses (d)	29
3.	. Representação gráfica da correlação entre atividade média da urease, para as quatro	
	épocas de amostragem, e produção de matéria seca total de plantas de milho	34
4.	Representação gráfica da correlação entre atividade média da urease, para as quatro	
	épocas de amostragem, e produção de grãos de milho	34

#### **RESUMO**

## ROSCOE, Renato. Atividade da urease em um Latossolo Vermelho Escuro de Sete Lagoas-MG, cultivado com milho, sob diferentes métodos de preparo do solo. Lavras: UFLA, 1997 51 p. (Dissertação - Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas)<sup>1</sup>

Os métodos de preparo do solo, geralmente, acarretam distúrbios neste ambiente, proporcionando alterações consideráveis em suas características físicas, químicas e biológicas. A busca de formas menos agressivas de preparo do solo é uma tendência global, visto que a preservação dos ambientes agrícolas é fundamental para o desenvolvimento de uma agricultura sustentável. O presente trabalho teve como objetivo obter bases para um melhor entendimento da dinâmica do N-uréia no solo sob diferentes métodos de plantio de milho e avaliar a possibilidade de se utilizar a atividade da urease como um índice de qualidade de solo, em condições de cerrado. O estudo foi realizado em um experimento de campo de longa duração, instalado em 1988, que tinha como objetivo comparar a produtividade de milho e feijão, em um Latossolo Vermelho Escuro, fase cerrado, localizado na EMBRAPA-CNPMS, em Sete Lagoas-MG, sob diferentes sistemas de preparo do solo: plantio direto, arado de disco e arado de aiveca. As parcelas foram compostas pelos diferentes métodos de preparo do solo, dispostas em blocos ao acaso. O estudo atual foi conduzido durante o ciclo do milho, no oitavo ano de cultivo (1996). Os diferentes tratamentos resultaram da combinação dos três métodos de preparo de solo e quatro doses de

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Orientador: Dr. Antônio Eduardo Furtini Neto; membros da banca: Prof. Geraldo Aparecido de Aquino Guedes, Dr. Carlos Alberto Vasconcellos e Profa Janice Guedes de Carvalho.

nitrogênio (0, 60, 120 e 240 Kg de N/ha), aplicadas em sub-parcelas, aos 45 dias após a emergência das plantas. Amostras do material de solo foram coletadas em quatro profundidades (0-7,5 cm; 7,5-15 cm; 15-30 cm; 30-40 cm) e quatro épocas distintas (0, 45, 60 e 100 dias após a emergência da cultura). A atividade da urease não sofreu influência das doses de N aplicadas em cobertura, em nunhuma das profundidades estudadas. O sistema de plantio direto apresentou em geral os maiores valores de atividade da urease ao longo do experimento, sendo que os sistemas utilizando arado de disco e arado de aiveca não diferiram entre si, em relação a este parâmetro. A atividade da urease correlacionou-se de forma altamente significativa com a produção de matéria seca total de plantas de milho (0,74\*\*) e com a produção de grãos (0,67\*\*). Embora a hidrólise da uréia tenha se correlacionado, nas primeiras profundidades e na média das profundidades, com vários parâmetros estudados (CTC efetiva, conteúdo de matéria orgânica e pH), regressões múltiplas no modelo "Stepwise" indicaram que a variável mais importante para a atividade da urease foi o N-biomassa. Calcularam-se os percentuais de atividade da urease fixada aos colóides do solo, sendo de 20-37 % na primeira profundidade (0 a 7,5 cm) e de 69-82 % na segunda profundidade (7,5 - 15 cm). O plantio direto foi o sistema de preparo do solo que manteve as melhores condições biológicas do solo, em comparação aos demais. A maior atividade da urease na superficie, no plantio direto, não reduziu a eficiência de utilização do N-uréia aplicado. A atividade da urease foi sensível às alterações do meio, causadas pelos diferentes métodos de preparo do solo, mostrando-se um parâmetro útil na avaliação da qualidade do solo.

### ABSTRACT

## UREASE ACTIVITY IN A DARK RED LATOSOL FROM SETE LAGOAS-MG, UNDER DIFFERENT SOIL MANEGEMENT SYSTEMS

The soil management usually disturbs this environment, changing significantly its physical, chemical, and biological properties. Nowadays, it's a global challenge to find same less aggressive tillage systems. The objectives of this present work were to obtain bases for better comprehension of the N-urea dynamic under no-tillage system, and to evaluate the possibility to use the urease activity as a soil quality index, under "cerrado" conditions. The study was conducted in a field long-term experiment Begining in 1988, to compare the corn and beans productivity in a red dark latosol, from the experimental station of EMBRAPA-CNPMS, Sete Lagoas-MG, under three different soil management systems: no-tillage, tillage with disk plow, and tillage with moldboard plow. The plots were composed of each management system, disposed in randomly blocks design. The study was conducted during the corn cycle, in the eighth cultivation year (1996). The treatments resulted from the combination of the three management system used, and four levels of nitrogen fertilization (0, 60, 120, and 240 Kg de N/ha). The nitrogen levels were applied in sub-plots, forty five days after plant emergency. Soil was sampled in four depths (0-7,5 cm; 7,5-15 cm; 15-30 cm; 30-40 cm) and in four different times (0, 45, 60, and 100 days after culture emergency). The nitrogen fertilization didn't effect the urease activity, independently of the depth. The no-tillage system showed the highest levels of urease activity during the experimental

period, and the others didn't differ itself. The urease activity was correlated hightly and significantly with total dry matter of corn (0,74\*\*) and grain yield (0,67\*\*). Although, the urease activity also correlated hightly and significantly with several soil characteristics (effective CEC, total CEC, organic matter content, and pH), in the first and second depths, and in the average of the activity to all depths, the Stepwise multiple regression models showed that N-biomass was the most important variable affecting urease activity. Using these models, fixed urease activity was determined in the first depth (20-37% of the total), and in the second depth (69-82% of the total). The no-tillage system showed the most favorable environment condition to soil biology. The highest urease activity in the no-tillage soil surface didn't reduce the N-urea utilization. The urease activity was sensitive to soil's changes, due different management systems, and may be used as a soil quality index.

## 1 INTRODUÇÃO:

Os métodos de preparo, geralmente, acarretam distúrbios no solo, proporcionando alterações consideráveis em suas características físicas, químicas e biológicas. A busca de formas menos agressivas de preparo do solo é uma tendência global, visto que a preservação dos ambientes agrícolas é fundamental para o desenvolvimento de uma agricultura sustentável.

O cerrado brasileiro constitui uma importante unidade geomorfoclimática, ocupando uma vasta área de 1.800.000 Km<sup>2</sup>, ou 21% do território nacional, cuja importância agronômica e econômica cresce a cada nova safra. Desde a década de 60, representa a mais importante fronteira agrícola do país, sendo explorado de forma rápida e desordenada, muitas vezes utilizando tecnologias impróprias para a região. Os solos mais cultivados são os latossolos, que representam 55% da área total. Caracterizados por uma boa condição topográfica e física, estes solos são muito propícios à mecanização, que, quando excessiva, têm provocado sérios problemas, reduzindo o potencial produtivo destas áreas.

O sistema de plantio direto, amplamente adaptado às condições climáticas e edáficas da região sul do Brasil, vem sendo sugerido como uma alternativa mais conservacionista para os cerrados. Na safra 1995/96, um milhão e meio de hectares de cerrado foram cultivados no sistema de plantio direto. Este sistema de preparo do solo promove uma maior proteção frente aos processos erosivos, entretanto, provoca alterações significativas nas propriedades do solo,

destacando-se o acúmulo de matéria orgânica e nutrientes nas primeiras profundidades. A dinâmica do nitrogênio, assim como dos outros elementos, é sensivelmente alterada, sendo o seu entendimento de fundamental importância para a programação de fertilizações nitrogenadas nestes ambientes. Entretanto, estudos visando a avaliação do impacto do sistema de plantio direto sobre a dinâmica deste nutriente são ainda escassos em solos sob condição de cerrado.

A urease é a enzima responsável pela hidrólise da uréia em CO<sub>2</sub> e NH<sub>3</sub>. Amplamente distribuída na natureza, está presente em vários seres vivos, animais, vegetais e microrganismos. No solo, pode ser encontrada em formas livres, ligadas às partículas coloidais (de origem mineral e orgânica) e na biomassa microbiana. A atividade desta enzima constitui um ponto chave na eficiência de fertilizações com uréia. No sistema de plantio direto, devido à deposição dos restos vegetais na superficie do solo, existe uma tendência de maior atividade biológica nas primeiras profundidades, aumentando a atividade enzimática. Esta maior atividade biológica poderia favorecer uma maior liberação de amônia por volatilização e maiores perdas de nitrato por lixiviação, no sistema de plantio direto, comparativamente aos sistemas convencionais de preparo do solo.

A atividade da urease no solo depende basicamente de dois grupos de fatores: aqueles relacionados à sua ligação a colóides do solo e aqueles relacionadas à atividade biológica. Portanto, a atividade desta enzima varia conforme as alterações nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, ocasionadas pelas diferentes práticas de manejo, e pode vir a ser um parâmetro extremamente útil na análise do impacto de técnicas de preparo e manejo dos solos cultivados.

O milho é uma das plantas com maior capacidade de armazenar energia, existente na natureza. Por esta razão é um dos principais cereais produzidos no mundo, sendo utilizado diretamente na alimentação humana, além de constituir a principal fonte de energia em rações animais. No Brasil, mais de 29 milhões de toneladas de milho foram produzidas na safra 95/96, sendo esperados mais de 32 milhões de toneladas para a safra 96/97. A adaptação de várias cultivares às condições de acidez dos cerrados, tornaram esta região a principal fronteira agrícola para a cultura do milho, nas últimas décadas. O estudo dos impactos dos métodos de cultivo utilizados para esta cultura nos cerrados se faz muito importante para a otimização de produções significativas e sustentáveis.

O presente trabalho teve como objetivo obter bases para um melhor entendimento da dinâmica do N-uréia no solo sob diferentes métodos de plantio de milho e avaliar a possibilidade de se utilizar a atividade da urease como um índice de qualidade de solo, em condições de cerrado.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

## 2.1 A urease no solo

A urease ( uréia amidohydrolase, EC 3.5.1.5 ) é a enzima que catalisa a hidrólise da uréia, conforme a equação a seguir ( Blakey et al. 1969, citado por Bremner e Mulvaney, 1978 ).

 $NH_{2}CONH_{2} \xrightarrow{\text{UREASE}} NH_{2}COOH + NH_{3} \xrightarrow{\text{AGUA}} CO_{2} + 2NH_{3} \xrightarrow{\text{AGUA}} H_{2}CO_{3} + 2NH_{3}$ 

A presença da urease em solos foi constatada pela primeira vez por Rotiniem em 1935, sendo confirmada pelos estudos de Courad, publicados entre 1940 e 1943, nos quais o autor não só confirmou a sua presença no solo, como apontou-a como responsável pela hidrólise da uréia aplicada (Bremner e Mulvaney, 1978).

A urease do solo pode ter sua origem ligada à atividade de microrganismos e plantas, podendo estar presente na biomassa, livre no solo ou complexada por colóides orgânicos e minerais (Alef e Nannipieri, 1995).

#### 2.2 Fontes de urease

Embora plantas e microrganismos possam liberar urease para o solo, cabe a estes últimos a maior participação no total (Bremner e Mulvaney, 1978). Os microrganismos ureolíticos são os responsáveis pela produção de urease, podendo liberá-la para o meio ou metabolizar a uréia dentro de seu próprio organismo (Lloyd e Jane Sheaffe, 1973). Estes autores, constataram que não houve alteração na atividade da urease quando foi aplicada uréia a um Podzólico Vermelho Amarelo, entretanto, quando foi aplicado uréia + glicose, houve um grande aumento na atividade da urease neste solo, assim como da população de bactérias ureolíticas. Zantua e Bremner (1976), trabalhando com solos do Iowa-EUA, também observaram uma elevação altamente significativa na atividade da urease, quando os solos foram tratados com glicose e com glicose + uma fonte de nitrogênio amoniacal, concluindo que o aumento da atividade da urease ocorreu devido ao aumento da população de microrganismos, estimulada pela fonte de energia.

### 2.3 Atividade da Urease no Solo

Os primeiros estudos envolvendo a atividade da urease no solo ressaltavam a existência de formas protegidas desta enzima. Conrad (1940) verificou que a atividade catalítica do solo sobre a uréia foi mais resistente ao ataque térmico e proteolítico comparativamente à enzima livre. Trabalhos posteriores constataram a existência de várias formas de urease no solo, podendo ser resumidas em duas formas básicas: enzimas intracelulares e extracelulares, sendo estas últimas subdivididas em livres e fixadas aos colóides do solo (McGarity e Myers, 1967; Burns, 1982). A atividade intracelular é resultante da atuação de enzimas presentes no interior de células vivas. A

atividade extracelular está relacionada com enzimas livres na solução do solo ou ligadas a colóides minerais e orgânicos.

A atividade da urease extracelular pode ser medida na presença de inibidores da atividade biológica. Estes inibidores interrompem temporariamente os processos metabólicos celulares, impedindo a atividade enzimática interna e a possível assimilação de NH<sub>4</sub><sup>-</sup> durante a determinação analítica. Dentre os inibidores mais usados atualmente, destacam-se o tolueno e a radiação gama. Na ausência dos inibidores, a atividade da urease resulta do somatório das enzimas intra e extracelulares (Burns, 1982).

McGarity e Myers (1967), trabalhando com cinco grupos de solos australianos, encontraram de 58 a 83% da atividade da urease relacionada a enzimas extracelulares, usando o tolueno como inibidor.

Pettit et al. (1976) submeteram amostras de solo secas ao ar a diferentes níveis de radiação gama. Os autores registraram uma queda de 40% na atividade da urease à radiação de 2,5 Mrad e, a partir daí, seguiu-se uma tendência linear de redução na atividade, com uma pequena inclinação. Os autores dividiram a atividade da urease em duas partes: a primeira, representada pelos 40% iniciais, corresponderia à atividade da urease intracelular e extracelular livre, que estariam mais susceptíveis à ação da radiação gama; a segunda, representada pelos 60% restantes, estaria relacionada a enzimas extracelulares fixadas a colóides do solo, sendo mais resistentes à radiação.

A dinâmica da urease no solo foi estudada, por vários autores, através de experimentos de incubação de solo na presença de fontes de energia para a microbiota, objetivando identificar ou caracterizar a sua influência na atividade da enzima. Lloyd e Jane Sheaffe (1973) estudaram o desenvolvimento populacional de bactérias ureolíticas e não-ureolíticas, na presença de uréia e

glicose + uréia, em um Podzólico Vermelho Amarelo, com baixo teor de carbono orgânico. A adição de uréia não levou a nenhuma alteração, entretanto a adição de uréia + glicose culminou em elevações altamente significativas nas populações de bactérias ureolíticas e não-ureolíticas, assim como na atividade da urease. A correlação entre a população de ureolíticos e atividade da urease foi altamente significativa.

Zantua e Bremner (1976), estudando o efeito da adição de glicose a seis solos, constataram que, na presença de tolueno, a atividade da urease manteve-se inalterada. Entretanto, na ausência de tolueno, ocorreu uma elevação altamente significativa na atividade da urease, atingindo um patamar máximo aos 10 dias de incubação. A partir daí, percebe-se uma redução gradativa da atividade até voltar ao patamar inicial aos 60 dias para alguns solos e aos 90 dias para outros, permanecendo estável novamente. Os autores atribuíram esta elevação ao aumento da população microbiana, que provocou uma maior atividade da urease intracelular e extracelular livre.

A natureza da fonte de energia fornecida à microbiota afeta de forma marcante a atividade da urease. Nannipieri, Muccini e Ciard (1983), trabalhando com glicose + nitrato e palha de centeio + nitrato (relação C:N de 30:1), perceberam uma maior persistência no aumento da atividade da urease para o tratamento que recebeu palha de centeio, que só retornou ao patamar inicial aos 30 dias, enquanto o tratamento com glicose chegou a este valor já aos 20 dias de incubação. Perucci (1990), por sua vez, utilizando um composto de lodo de esgoto, registrou aumento de atividade da urease durante cinco meses de incubação.

## 2.4 Fixação da urease aos colóides do solo

As enzimas provenientes de plantas e microrganismos no solo são atacadas por proteases e sofrem a influência de processos de imobilização, além dos efeitos das condições ambientais: temperatura, pH, umidade (Sarker e Burns, 1984; Dick e Tabatabai, 1992).

O estudo da fixação de enzimas por partículas coloidais, no solo, iniciou-se na década de 40, com os trabalhos de Conrad. Este autor concluiu que a manutenção da atividade da urease no solo, mesmo sob condições adversas, estava relacionada a "algum tipo de combinação resistente com substâncias orgânicas ou minerais do solo" (Conrad, 1940, 1942). Ensminger e Gieseking (1942), trabalhando com suportes bentonita, caulinita e a fração coloidal de um solo de Illinois, e as proteínas albumina e hemoglobina, concluíram que "o grau de interferência da argila na hidrólise enzimática das proteínas parece ser influenciado pela capacidade de troca da argila". Paulson e Kurtz (1969) confirmaram as proposições de Conrad observando um nível constante de atividade da urease, independentemente da proliferação de microorganismos. Este fato por si só, sugere que existe um mecanismo de proteção dessa enzima no solo. Estudos realizados por Speir e Ross (1990), em solo turfoso registraram a atividade da urease, invertase, amilase, fosfatase e sulfatase a profundidades de até 8,30 m, em sedimentos de 9.900 anos de idade.

Várias teorias vem sendo propostas para explicar a ligação de enzimas extracelulares a partículas de solo: microencapsulamento, formação de polímeros, adsorção, pontes com ions trocáveis, ligações covalentes (Lai e Tabatabai, 1992). Com o objetivo de compreender melhor as interações existentes entre as enzimas e os colóides minerais e orgânicos do solo, desenvolveram-se vários trabalhos utilizando-se argilas purificadas, polímeros orgânicos minerais e sintéticos, frações purificadas de matéria orgânica do solo, além de solos com características químicas, físicas

e biológicas bem definidas. Albert e Harter (1973), citados por Dick e Tabatabai (1992), observaram que a adsorção de lisozimas e ovalbumina, por argilas saturadas com sódio, causou um aumento na quantidade de Na na solução. Os autores interpretaram este resultado como uma evidência da ocorrência de adsorção das proteínas no complexo de troca, funcionando como um mecanismo de ligação com as argilas no solo.

Pinck e Allison (1961), utilizando como suporte a montmorilonita, relacionaram a fixação de urease a fenômenos de adsorção. Segundo os autores, como o PCZ da urease encontrase na faixa de pH 5,0, abaixo deste valor a enzima desenvolve um balanço de cargas positivo, possibilitando uma maior adsorção na montmorilonita. Os autores relataram ainda que foi detectada atividade da urease no sobrenadante (não chegando a 10% da atividade enzimática total), somente a valores de pH acima de 7,0. Concluíram que o processo de ligação da enzima com estes colóides minerais é devido a interações eletrostáticas. Resultados semelhantes foram obtidos por Gianfreda, Rao & Violante (1992), que estudaram a fixação de urease sintética por diferentes suportes: montmorilonita, montmorilonita +  $Al(OH)_x$  e  $Al(OH)_x$ .

Boyd e Mortland (1985) trabalharam com complexos organo-minerais (HDTMAesmectita) e urease sintética. O complexo foi capaz de imobilizar até 40% de seu peso em urease. A 10% de peso/peso, a atividade do sobrenadante foi nula, mesmo depois de 3 agitações, sugerindo que a ligação é extremamente forte. A imobilização da urease pelos complexos organominerais foi independente do pH, visto que nenhuma atividade fora detectada no sobrenadante, em uma larga faixa de pH (4-8). Os autores concluíram que a ligação entre a urease e o complexo estudado foi do tipo hidrofóbica, e que este tipo de interação não interferiu na atividade enzimática.

Segundo Gianfreda, Rao e Violante (1992), a urease fixada pelos suportes minerais estudados (montmorilonita, montmorilonita + Al(OH)<sub>x</sub> e Al(OH)<sub>x</sub>) foi sensível a degradação térmica e enzimática. Burns, Pukite e McLaren (1972) constataram que complexos bentonitaurease não foram resistentes à ação proteolítica, enquanto complexos bentonita-lignina-urease o foram. Estes mesmos autores, trabalhando com matéria orgânica extraída de alguns solos, livres de argilas, mostraram que a atividade da urease desta fração foi mais resistente a ação proteolítica. Entretanto, Nannipieri et al. (1978), trabalhando com frações de matéria orgânica extraídas do solo, verificaram que as frações de maior peso molecular (PM >  $10^5$ ) exerceram maior poder de proteção da urease, contra a ação térmica e proteolítica. Ao que parece, a ação protetora das partículas do solo sobre a urease está relacionada mais com a parte orgânica. Porém, mesmo com relação à fração orgânica, existem diferenças entre a capacidade de proteção, sendo as frações orgânicas e complexos de maior peso molecular os mais efetivos. Este fato sugere a ocorrência de uma proteção física, ou seja, a enzima ficaria oclusa em complexos com poros grandes o suficiente para a passagem dos substratos e produtos, mas pequenos para a entrada de enzimas proteolíticas (Burns, Pukite e McLaren, 1972; Nannipieri et al., 1978; Dick e Tabatabai, 1992).

## 2.5 Correlações com características físicas, químicas e biológicas dos solos

Existem várias evidências dos efeitos de propriedades físicas, químicas, físico-químicas e biológicas do solo sobre os níveis de atividade da urease. Tais efeitos variam consideravelmente em diferentes solos. Matéria orgânica, carbono orgânico, nitrogênio total, textura, CTC, pH, biomassa são algumas das propriedades do solos comumente correlacionadas com a atividade da urease. Conrad (1942) foi o primeiro autor a relacionar a atividade da urease no solo com o seu

conteúdo de matéria orgânica. Stojanovic (1959), por sua vez, concluiu que a atividade da urease variava sazonalmente em virtude da atividade biológica do solo, que era influenciada pelas condições de umidade e temperatura.

As correlações entre atividade da urease e CTC, pH, teores de argila, silte e areia são geralmente não significativas e, quando o são, apresentam um coeficiente de correlação muito baixo (McGarity e Myers, 1967; Pancholy e Rice, 1972; Zantua, Dumenil e Bremner, 1977; Kumar e Wagenet, 1984; Santos, Vale e Santos, 1991). Alguns estudos, no entanto, registram valores altamente significativos para as correlações entre atividade da urease, CTC e teor de argila (Dalal, 1975; Zantua, Dumenil e Bremner, 1977). Como estas características estão intimamente relacionadas com o conteúdo de carbono orgânico do solo, os autores concluiram que o efeito altamente significativo foi indireto, sendo que o fator que realmente determinou o comportamento dos solos estudados foi o teor de carbono orgânico.

O teor de carbono orgânico e matéria orgânica do solo são os parâmetros que apresentam as melhores correlações com a atividade da urease (Conrad, 1942; McGarity e Myers, 1967; Myers e McGarity, 1968; Gould, Cook e Webster, 1973; Tabatabai, 1973; Dalal, 1975; Zantua, Dumenil e Bremner, 1977). Contudo, alguns estudos evidenciam que outros fatores além do conteúdo de carbono orgânico podem influenciar na atividade da urease, interferindo nas correlações. Myers e McGarity (1968), estudando cinco grupos de solos australianos, encontraram uma correlaçõe positiva e altamente significativa entre a atividade da urease e carbono orgânico, para todos os solos em conjunto. Quando os autores separaram os grupos de solos, encontraram correlações mais altas em três grupos e correlações não significativas para dois grupos. Os autores concluíram que outros fatores, tais como mineralogia, textura e gleização estavam influenciando a atividade da urease nestes solos.

Gould, Cook e Webster (1973) encontraram correlações altamente significativas entre carbono orgânico e urease para três solos sob vegetação de mata e, não significativas, para dois solos sob cultivo. Santos, Vale e Santos (1991) e Palma e Conti (1990) constataram que os diferentes tipos de vegetação afetavam significativamente a atividade da urease concluindo que as diferenças ocorreram em virtude da natureza dos resíduos incorporados e das peculiaridades dos diferentes ambientes.

A atividade da microbiota muito influencia a hidrólise da uréia nos solos. Paulson e Kurtz (1969) encontraram coeficientes de correlação entre o número de ureolíticos e a atividade da urease altamente significativos (0,97 quando a fonte de nitrogênio foi amônio e de 0,94 para uréia). Nannipieri et al. (1979) verificaram que a atividade da urease correlacionou-se de forma altamente significativa com a biomassa bacteriana, mas não com a biomassa fúngica e total. Perucci (1990), utilizando-se do parâmetro N na biomassa como indicativo da biomassa microbiana encontrou um coeficiente de correlação entre este parâmetro e a atividade da urease de 0,715 (P<0,01). Os dados do último autor evidenciam, ainda, que o pico de maior teor de N na biomassa ocorre um mês antes do pico de atividade da urease. Este comportamento pode ser explicado pela liberação de urease intracelular através da lise de células, no momento em que o N-biomassa começa a se reduzir.

Como pode ser observado, a atividade da urease nem sempre correlaciona-se com os parâmetros de solos. Isso se deve ao fato de que essa enzima apresenta um comportamento muito peculiar no solo, sendo sua atividade resultante da interação entre os fatores que determinam a sua fixação no solo e os relacionados com a atividade biológica. Desta forma, o grupo de fatores que está predominando em uma situação pode ser diferente do grupo de fatores que está predominando em uma outra situação e ao agrupá-los misturam-se os efeitos dos fatores, sendo mascaradas possíveis correlações significativas.

### 2.6 Sistemas de Preparo do Solo

O revolvimento do solo promove significativas alterações em suas características físicas, químicas e biológicas. Os métodos de preparo que promovem o revolvimento do solo têm sua origem ligada às regiões de clima temperado, com invernos rigorosos, onde os principais objetivos eram o de expor o solo congelado aos raios solares, eliminar as ervas daninhas e criar condições de germinação e desenvolvimento das culturas de verão (Sá, 1993). Entretanto, trabalhos pioneiros, já na década de 40, apontavam para as vantagens da semeadura em sistema de plantio direto, no que se refere a conservação do solo e produtividade das culturas, em regiões temperadas (Phillips, 1984). Posteriormente, vários trabalhos demonstraram o ganho de produtividade na cultura de milho, sob plantio direto, nessas regiões (Jones et al., 1968; Triplett Jr. e Van Doren Jr., 1969; Shear e Moschler, 1969).

No Brasil, os primeiros estudos comparativos entre métodos tradicionais de preparo do solo e plantio direto foram realizados na década de setenta, nos estados do sul do país (Sá, 1993). No entanto, atualmente a prática do plantio direto expandiu-se para a região dos cerrados, consolidando-se como uma alternativa viável para a implementação de uma agricultura sustentável.

O sistema de plantio direto proporciona uma proteção constante da superficie do solo, evitando a incidência direta dos raios solares e o impacto das gotas de chuva, impedindo o encrostamento na camada superficial (Phillips, 1984). Devido ao menor contato com o solo, os resíduos adicionados pelas culturas apresentam uma taxa de decomposição mais lenta, proporcionando um acúmulo de matéria orgânica nas primeiras camadas (0-5cm e 5-10 cm) (Blevis, Thomas e Cornelius, 1977; Juo e Lal, 1979; Doran, 1980; Dick, 1983, 1984), garantindo um suprimento constante de substrato, estimulando o desenvolvimento microbiano (Doran, 1980; Dick, 1984; Sá, 1993). Segundo Kochhann (1996), o plantio direto, por não provocar o revolvimento do solo, favorece a manutenção de teores mais elevados de matéria orgânica, o que estimula a atividade biológica. Este estímulo provoca a imobilização do N mineral na biomassa microbiana, tornando a reciclagem deste nutriente mais eficiente. Follet e Schimel (1989) verificaram que o aumento da intensidade de cultivo do solo reduziu a sua capacidade de imobilizar e reter o N mineral, devido a uma redução no carbono disponível para ser utilizado como substrato pela microbiota.

O acúmulo de matéria orgânica na superficie estimula a atividade biológica nas primeiras profundidades, o que pode refletir em uma maior atividade enzimática. Klein e Koths (1980) observaram uma elevação significativa na atividade da urease, na profundidade de 0-10 cm, sob plantio direto, em relação ao sistema de preparo do solo convencional. Dick (1984) obteve valores de atividade da urease 5,2 e 3,0 vezes superiores ao do plantio convencional, na profundidade de 0-7,5 cm, em dois solos dos Estados Unidos.

A maior atividade da urease nas primeiras camadas de solo, no sistema de plantio direto, pode provocar uma hidrólise rápida da uréia aplicada como fertilizante, promovendo perdas de nitrogênio por volatilização de amônia (Dick, 1984). Outra possibilidade, levantada pelo mesmo autor, seria a rápida conversão do amônio a nitrato, aumentando as perdas por lixiviação. Entretanto, Klein e Koths (1980), comentando sobre este possível aumento nas perdas de nitrogênio, ressaltam que este aumento na atividade enzimática pode ser compensado pela elevação da biomassa, que imobiliza o excesso de N mineral, proveniente da hidrólise da uréia.

A utilização do sistema de plantio direto tem crescido bastante na região do cerrado brasileiro. Na safra 1991/92, somente 180 mil hectares eram cultivados no sistema de plantio direto; em 1995/96, esta área estendeu-se para 1.500 mil hectares (ASSOCIAÇÃO... 1996). Entretanto, os dados de pesquisa disponíveis, sobretudo no que diz respeito a biologia do solo, são ainda muito escassos. O estudo da atividade da urease nestes ambientes pode trazer importantes contribuições, não só para um melhor entendimento do ciclo do N e a otimização das adubações nitrogenadas, mas também para avaliação do impacto deste método de preparo do solo na estabilidade e sustentabilidade dos agroecossistemas de cerrado.

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### 3.1 Caracterização da área

O experimento foi instalado em condições de campo em um Latossolo Vermelho Escuro, fase cerrado, localizado na EMBRAPA - Centro Nacional de Milho e Sorgo, no município de Sete Lagoas, Minas Gerais. As características químicas e fisicas do solo encontram-se na Tabela 1. Trata-se de uma área experimental, na qual desenvolve-se um experimento de longa duração (instalado em 1988), que visa detectar diferenças entre três métodos de preparo do solo: Plantio Direto (PD), Plantio Convencional com arado de disco (AC) e Plantio convencional com arado de Aiveca (AA), na dinâmica de nutrientes no solo. O experimento encontra-se no oitavo ano de implantação, sendo que a cada ano realiza-se o plantio de milho, seguido por feijão, ambos sob irrigação. A área anteriormente era cultivada com milho, no sistema tradicional, com aração e gradagem.

#### 3.2. Tratamentos

O milho, o híbrido triplo Cargil-805, foi plantado no dia 25 de novembro de 1995. Realizou-se uma adubação de plantio, comum a todos os tratamentos, na dosagem de 400 Kg/ha da formulação 4-20-20.

1

Características		Dir	cto		Disco							
	0-7,5*	7,5-15	15-30	30-40	0-7,5*	7,5-15	15-30	30-40	0-7,5*	7,5-15	15-30	30-40
pH cm água	6,40	6,30	5,93	5,68	6,25	6,33	6,28	6,03	6,13	6,05	6,00	5,78
H' + Al <sup>3+</sup> (cmol <sub>e</sub> .dm <sup>-3</sup> )	2,23	3,48	3,44	4,06	2,63	2,88	3,02	3,80	3,00	3,62	3,85	4,46
Al <sup>3</sup> ' (cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> )	-	-	-	0,13	-	-	-	0,04	-	-	-	0,05
Ca <sup>2</sup> ' (cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> )	7,75	5,98	5,12	3,29	7,07	6,95	6,28	5,02	6,33	5,89	5,30	3,87
Mg <sup>2+</sup> (cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> )	1,49	0,89	0,81	0,59	1,06	1,01	0,83	0,80	1,10	1,02	0,93	0,70
$K^{+}$ (mg. dm <sup>-3</sup> )	270,00	154,75	53,50	28,5	272,50	179,00	79,50	55,75	234,50	142,75	87,00	46,75
P (mg. dm <sup>-3</sup> )	27,50	28,25	13,75	4,5	37,00	36,75	17,75	10,00	32,75	29,50	20,50	9,00
S (cmol <sub>c</sub> .dm <sup>·3</sup> )	9,93	7,27	6,05	7,68	8,83	8,42	7,31	5,95	8,03	7,28	6,45	4,69
t (cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> )	9,93	7,27	6,06	4,07	8,83	8,42	7,31	5,99	8,02	7,28	6,45	4,74
T (cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> )	12,16	10,75	9,49	8,00	11,46	11,30	10,33	9,75	11,03	10,90	10,30	9,15
m (%)	-	-	-	3,19	-	-	-	0,83	-	-	-	1,05
V (%)	82	68	64	49	77	75	71	61	73	67	63	51
$N-NH_1^{+}$ (mg. kg <sup>-1</sup> )	1,78	1,89	3,07	1,61	1,80	1,82	2,05	1,57	1,88	1,27	1 <b>,26</b>	2,13
$N-NO_{3}^{-1}$ (mg. kg <sup>-1</sup> )	43,45	14,65	9,00	4,06	31,01	17,33	9,45	5,19	32,08	18,99	10,99	6,84
N-biomas. (mg. kg <sup>-1</sup> )	69,7	65,8	68,6	51,5	43,7	49,9	58,4	42,1	43,8	57,2	60,9	51,1
N-total (dag.kg <sup>-1</sup> )	0,15	0,14	0,13	0,11	0,14	0,13	0,11	0,12	0,13	0,13	0,12	0,09
Argila (g.kg <sup>.1</sup> )	800	800	810	810	800	800	810	820	800	800	810	820
Silte (g.kg <sup>-1</sup> )	60	90	70	60	70	70	70	70	70	70	70	70
Arcia (g.kg <sup>-1</sup> )	140	110	120	130	130	130	120	110	130	130	120	110
M.O. (dag.kg <sup>-1</sup> )	4,59	3,65	3,54	2,94	4,11	4,07	3,57	3,29	3,87	3,91	3,19	3,19

Tabela 1. Características químicas e físicas do solo antes do plantio.

\* profundidade de amostragem, em cm.

O experimento foi instalado em blocos casualizados, no arranjo fatorial em parcelas subdivididas, em que os diferentes métodos de preparo do solo (Plantio Direto; Arado de Disco e Arado de Aiveca) constituiram as parcelas e as subparcelas receberam quatro doses de nitrogênio: (N0) - 0 Kg de N/ha; (N1) - 60 Kg de N/ ha; (N2) - 120 Kg de N/ ha; (N3) - 240 Kg de N/ha; que foram aplicados em cobertura, quando as plantas apresentavam de 6 a 8 folhas (aos 45 dias após emergência das plantas), em quatro repetições, totalizando 48 parcelas. A área útil de cada subparcela foi de 180 m<sup>2</sup> (7,2 x 25 m), contendo 8 linhas com espaçamento de 0,9m.

#### 3.3 Coleta, preparo das amostras e determinações

As coletas de solo foram realizadas ao longo do ciclo da cultura de milho, em número de quatro, sendo a primeira (época 1) realizada antes do plantio; a segunda (época 2), aos 45 dias após a emergência da cultura (antes da adubação de cobertura); a terceira (época 3), aos 60 dias (15 dias após a adubação de cobertura); e a quarta (época 4), por ocasião da maturação fisiológica da cultura (100 dias após a emergência das plantas).

As amostragens foram realizadas em quatro profundidades: 0-7,5 cm; 7,5-15 cm; 15-30 cm; e 30-40 cm; nas entrelinhas.

Para cada tratamento e cada profundidade foi coletada uma amostra composta, constituída por 10 amostras simples. As amostras para as diferentes profundidades foram coletadas no mesmo local, não havendo casualização entre as mesmas.

As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificadas e mantidas em "freezer", à temperatura de -5°C até a realização das análises.

As amostras de material vegetal foram coletadas por ocasião da última amostragem de solo. Foram amostradas 10 plantas por parcela. As amostras foram pesadas em campo para a obtenção do peso fresco, sendo acondicionadas em sacolas de papel e, posteriormente, foram secas em estufa, tendo o seu peso seco determinado. De cada amostra, após a secagem e pesagem, foi retirada uma subamostra que foi moida e encaminhada para as análises.

#### 3.4 Análises realizadas

No material vegetal foram determinados o teor de matéria seca (relacionando-se o peso fresco com o peso seco) e o teor de nitrogênio total, conforme metodologia proposta por Bremner e Mulvaney (1982).

Nas amostras de solo foram realizadas determinações físicas e químicas.

A análise granulométrica foi realizada por dispersão das amostras usando princípios químicos (NaOH 0,1N) e físicos (agitação com alta rotação). A separação da fração areia (2 a 0,053 mm) foi feita por tamisagem. As demais frações, silte (0,053 mm a 0,002 mm) e argila (< 0,002 mm), foram determinadas segundo o método da pipeta (Day, 1965).

As determinações químicas foram realizadas conforme Vettori (1969), com modificações para pH<sub>igus</sub>, acidez não trocável (H + Al); Ca, Mg e Al (extraídos por KCl 1N); P extraído por HCl 0,05N +  $H_2SO_4$  0,025 N (EMBRAPA, 1979). A matéria orgânica e nitrogênio total foram determinados segundo Raij e Quaggio (1983) e Bremner e Mulvaney (1982), respectivamente. A biomassa nitrogênio foi obtida através do método descrito por Pruden, Kalembasa e Jenkinson. (1985), baseado na diferença no teor de nitrogênio total extraído com K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N entre as amostras de solo fumigadas e não fumigadas.

A atividade da urease foi determinada pela metodologia proposta por Parcson, Gray e Willian (1971). Trata-se de um método tamponado, que utiliza tolueno para inibir a atividade biológica durante o período de incubação de 3 horas. A atividade da urease é obtida através da quantificação do nitrogênio na forma de amônio liberado durante a incubação, sendo determinado por espectrofotometria.

#### 3.5 Procedimentos estatísticos

A análise estatística dos dados foi realizada com o auxílio dos softwares EXEL, SPSS e SAEG. Primeiramente foi realizada uma análise de variância para atividade da urease em função da dose de nitrogênio e do método de preparo do solo, dentro de cada época e de cada profundidade. Para as épocas 1 e 2, a análise foi feita em blocos casualizados, sem o esquema fatorial, pois não existiam ainda as doses de nitrogênio em cobertura. Para as épocas 3 e 4, a análise foi em blocos casualizados, no esquema fatorial, em parcelas subdivididas (Anexo 1), tendo sido utilizado o programa SAEG.

Posteriormente, o efeito de época foi eliminado, determinando-se a atividade média da urease para todas as épocas. Em seguida, realizou-se uma análise de variância para esta atividade média das épocas, em função da dose de N e do método de preparo do solo, dentro de cada profundidade, sendo a análise em blocos casualizados, no esquema fatorial, em parcelas subdivididas. O efeito da profundidade foi testado por meio de análise conjunta de experimentos em parcelas subdivididas, segundo metodologia descrita por Campos (1984). Nesta análise cada profundidade entrou como um experimento separado, no qual métodos de preparo do solo constituíam as parcelas e as doses de N, as subparcelas (Anexo 2). Para tanto foi utilizado o programa EXEL.

Realizaram-se ainda análises de correlação de Pearson, entre a atividade média da urease (média ponderada da atividade na profundidade de 0-40 cm, durante o ciclo da cultura, ou seja, média das épocas de amostragem) e a produção de matéria seca de plantas de milho e a produção de grãos, utilizando o programa de estatística SPSS. Outras correlações de Pearson foram efetuadas, entre atividade da urease e algumas características do solo (N na biomassa, pH, matéria orgânica, CTC efetiva e CTC total a pH 7,0), utilizando o programa de estatística SPSS.

Foram realizadas, ainda, análises de regressão linear múltipla no modelo "Stepwise", com o acréscimo seqüencial de variáveis, representado pela equação genérica:

$$Y = \alpha + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_5 X_5$$

As variáveis dependentes e independentes utilizadas encontram-se na Tabela 2 e as componentes do modelo na Tabela 3.



TABELA 2. Variáveis dependentes e independentes utilizadas no modelo proposto:

Variável	Descrição das variáveis
Y	Atividade da urease ( $\mu g$ de NH <sub>4</sub> /g de solo/hora);
$X_I$	N presente na biomassa (µg de N/g de solo);
$X_2$	Conteúdo de matéria orgânica do solo (dag/Kg);
$X_3$	pH do solo
$X_4$	Capacidade de troca de cátions efetiva - CTCefetiva (cmol <sub>c</sub> /kg);
$X_5$	Capacidade de troca de cátions a pH 7,0 - CTCtotal (cmol <sub>c</sub> /Kg).

TABELA 3. Componentes utilizadas no modelo proposto

Componente	Descrição das componentes Atividade da urease total;						
$\overline{Y}$							
α	Atividade da urease independente das variáveis estudadas;						
$\beta_I X_I$	Influência do N presente na biomassa;						
$\beta_2 X_2$	Influência do conteúdo de matéria orgânica do solo;						
$\beta_3 X_3$	Influência do pH do solo;						
$\beta_4 X_4$	Influência do capacidade de troca de cátions efetiva - CTCefetiva;						
$\beta_5 X_5$	Influência do capacidade de troca de cátions a ph 7,0 - CTCtotal.						

#### **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### 4.1 Atividade da Urease em Função das Épocas de Amostragem

O nitrogênio em cobertura foi aplicado após a segunda época de amostragem, portanto, o efeito das diferentes doses (0, 60, 120 e 240 Kg de N/ha), sobre a atividade da urease, foi testado somente para as épocas 3 e 4. Para estas épocas não houve efeito significativo das doses de N, em nenhuma das profundidades estudadas (0 - 7,5 cm; 7,5 - 15 cm; 15 - 30 cm; 30 - 40 cm) e nem para a média das profundidades (0 - 40 cm) sobre a atividade da enzima. O comportamento seguido pela atividade média da urease, na profundidade de 0 - 40 cm, em função das diferentes doses de N e dos métodos de preparo do solo, pode ser observado na Figura 1 (<u>a</u>, <u>b</u> e <u>c</u>). As interações entre métodos de preparo do solo e doses de N também não foram significativas em nenhuma das profundidades e nem na média das profundidades.

O nitrogênio aplicado em cobertura, mesmo na maior das doses, não foi capaz de alterar a dinâmica da atividade da urease no solo. Para que esta dinâmica fosse alterada, mais urease deveria entrar no sistema. A principal fonte de urease no solo são os microrganismos ureolíticos (Bremner e Mulvaney, 1978). Lloyd e Jane Sheaffe (1973) observaram que não houve alteração na atividade da urease em um Podzólico Vermelho Amarelo, quando foi aplicada uréia. Entretanto, quando foi aplicada uréia + glicose, ocorreu um aumento significativo no

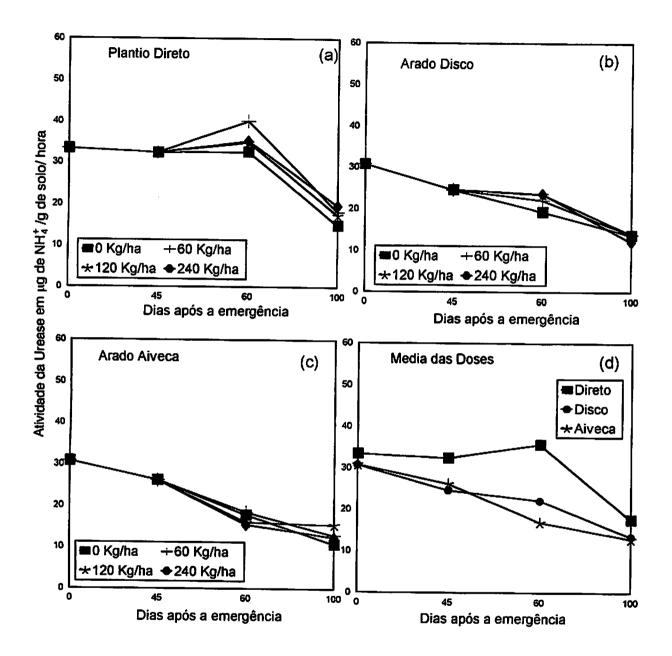


Figura 1 Atividade média da urease, na profundidade de 0-40 cm, em função da dose de N aplicada em cobertura (em Kg/ha) e da época de amostragem (em dias após a emergência): (a) Plantio Direto; (b) Arado de Disco; (c) Arado de Aiveca; e em função dos métodos de preparo do solo e das épocas de amostragem (d).

número de ureolíticos no solo e, conseqüentemente, na atividade da urease. Provavelmente, as doses de nitrogênio aplicadas, no presente estudo, não estimularam a atividade microbiana a ponto de promover a produção de urease no sistema, podendo ser a fonte de energia o fator limitante. As fortes correlações existentes entre atividade da urease e N-biomassa, nas épocas 3 e 4, para a média das profundidades (0,71\*\* e 0,77\*\*, respectivamente) e principalmente na profundidade de 0 - 7,5 cm (0,77\*\* e 0,90\*\*, respectivamente), corroboram com esta hipótese. Follett e Schimel (1989) verificaram que o cultivo intensivo do solo reduz sua capacidade de imobilizar e reter N mineral, pois ocorre uma redução no carbono disponível, que funciona como fonte primária de energia para o crescimento da microbiota.

A atividade da urease foi, em geral, significativamente maior no plantio direto, quando comparado aos demais métodos de preparo do solo (Tabela 4 e Figura 1). Somente na última época de amostragem os valores foram estatisticamente iguais, embora ainda apresentassem a mesma tendência das épocas anteriores. Os métodos que utilizam o arado de disco e o arado de aiveca não diferiram entre si, quanto à atividade da urease, nas diferentes épocas. Ficou bastante evidente a interferência do revolvimento do solo na hidrólise da uréia. Os valores mais baixos de atividade podem estar relacionados com uma maior pulverização do solo, provocando a ruptura de agregados e consequente exposição da urease à degradação enzimática. Diversos autores têm chamado a atenção para a ocorrência de uma proteção física da urease no solo, através da qual a enzima ficaria oclusa no interior de agregados com poros grandes o bastante para a passagem de substrato e produtos, mas pequeno para a entrada de enzimas proteolíticas (Burns, Pukite e McLaren, 1972; Pettit et al., 1976; Bremner e Mulvaney, 1978; Nannipieri et al., 1978; Dick e Tabatabai, 1992). Outra possível explicação para uma menor atividade enzimática nos sistemas que promovem o revolvimento do solo, seria a maior taxa de degradação dos resíduos orgânicos

de fácil decomposição, quando incorporados. Estes resíduos são rapidamente atacados pela microbiota, pois o revolvimento do solo promove uma maior aeração e exposição do material orgânico a esse ataque (Stevenson, 1986; Siqueira e Franco, 1988). Isto levaria a uma rápida redução na disponibilidade de fontes energéticas para a microbiota, reduzindo a sua atividade e consequentemente a atividade da urease. De Maria e Castro (1993), trabalhando com um Latossolo Roxo distrófico, observaram uma redução no teor de matéria orgânica em sete anos de cultivo, na camada de 0-5 cm, de 27% para o sistema de plantio direto, 35,5% para o plantio convencional e de 37,5% para o plantio com escarificador. No plantio direto, a não incorporação dos resíduos faz com que a área de contato com o solo seja menor, promovendo uma decomposição mais lenta, garantindo um suprimento constante para a microbiota.

TABELA 4. Atividade média da urease (µg de NH₄<sup>+</sup>/g de solo/hora), na profundidade de 0 -40cm, em função dos métodos de preparo do solo e das épocas de amostragem.

Método de		Dias após I	Emergência	
Preparo do Solo	0	45	60	100
Plantio Direto	33,32a	32,36a	35,25a	17,55a
Arado Disco	30,68b	24,66b	22,19b	13,48 a
Arado Aiveca	30,76b	26,19ab	16,93b	12,87a
CV (%)	4,23	14,99	19,91	32,07

\*Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade.

Analisando-se o comportamento da atividade da urease nas diferentes épocas, em função dos métodos de preparo do solo (Tabela 4 e Figura 1), percebeu-se uma tendência de redução contínua desta atividade em função do tempo, para os métodos que movimentam o solo (Arado de Disco e Arado de Aiveca). Para o plantio direto, observou-se um comportamento mais estável, não havendo muita alteração nas amostragens realizadas até os 60 dias. A partir deste ponto, houve uma redução acentuada até valores próximos aos observados para os demais métodos, aos 100 dias. Estas tendências evidenciam mais uma vez a maior estabilidade do solo sob plantio direto, em relação aos métodos de preparo com arado de disco e de aiveca, proporcionando uma atividade biológica mais estável ao longo do tempo.

### 4.2 Atividade da Urease em Função das Profundidades de Amostragem

A avaliação da atividade da urease em função da profundidade de amostragem, dos métodos de preparo do solo, das doses de N aplicado em cobertura e suas interações foi realizada utilizando-se as médias da atividade da urease ao longo do período de estudo. Neste ponto, o efeito de épocas foi eliminado, pois julgou-se mais importante uma visão do comportamento global. A média das épocas pode eliminar possíveis distorções sazonais dos dados, comuns em análise bioquímicas no solo, o que poderia comprometer sobremaneira a expressão de algum efeito importante.

Na determinação da atividade da urease nas diferentes profundidades, as amostras foram retiradas em um mesmo local, sendo feitas tradagens consecutivas. Por esta razão, não houve casualização entre as profundidades. Optou-se, então, por fazer a análise de variância considerando cada profundidade em separado, como se fossem experimentos isolados e, posteriormente, realizou-se a sua comparação através de uma análise conjunta de experimentos (Anexos 1 e 2). A relação máxima entre os quadrados médios dos resíduo das análises individuais foi igual a 3,71 (Anexo 1), estando abaixo da relação máxima aceitável (4:1) para o agrupamento de experimentos (Campos, 1984).

Os valores de atividade da urease dentro de cada bloco representam as médias de épocas. Na Tabela 5 e Figura 2 (<u>a</u>, <u>b</u> e <u>c</u>) podem ser visualizados os valores médios de atividade da urease para os quatro blocos, em função do método de preparo do solo, da dose de N aplicada e das profundidades de amostragem.

**TABELA 5.** Atividade média da urease (em μg de NH<sub>4</sub><sup>-/</sup> g de solo/ hora), em função da dose de nitrogênio aplicada, do método de preparo do solo e da profundidade de amostragem.

Métodos	Dose de N		le Amostragem		
Preparo Solo	(Kg/ha)	0-7,5 cm	7,5-15 cm	15-30 cm	30-40 cm
Plantio Direto	0	31,70	19,84	25,08	36,56
	60	35,48	23,25	27,72	37,44
	120	37,22	22,55	22,78	33,80
	240	34,44	22,33	26,44	37,30
Arado Disco	0	18,04	18,61	24,82	27,03
1	60	19,80	21,22	23,94	26,46
	120	18,36	18,10	25,36	31,09
	240	19,23	19,65	23,71	28,64
Arado Aiveca	0	17,92	17,94	22,60	27,03
	60	19,12	18,69	23,14	27,34
	120	17,55	18,10	25,37	27,39
	240	16,74	18,16	22,58	27,30

Através da análise conjunta, observou-se efeito significativo das doses de N na atividade da urease (P > 0,0363). Entretanto, as analises individuais dentro de cada profundidade não revelaram efeito significativo para as doses de N (Anexo 1), confirmando os resultados obtidos para as diferentes épocas (Seção 4.1).

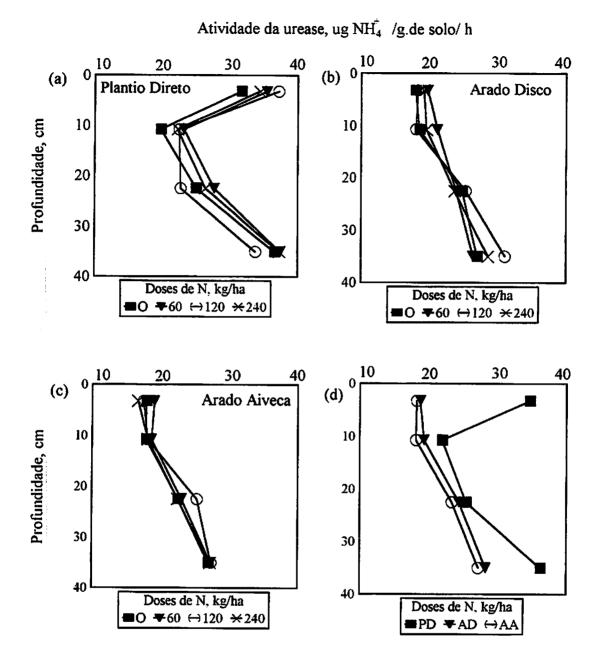


FIGURA 2. Atividade da urease em função das profundidades de amostragem e das doses de nitrogênio aplicada em cobertura: (a) Plantio Direto; (b) Arado de Disco; (c) Arado de Aiveca; (d) em função da profundidade, para as médias das doses.

A interação entre métodos de preparo do solo e profundidades de amostragem foi altamente significativa. Na Tabela 6 e Figura 2 (d) são apresentados os valores de atividade média da urease, em função dos métodos e profundidades. O plantio direto apresentou valores mais elevados de hidrólise da uréia para todas as profundidades, embora estatisticamente superior somente nas profundidades 0 - 7,5 cm e 30 - 40 cm. Com relação às profundidades, as diferenças significativas também ocorreram somente dentro do plantio direto destacando-se as mesmas profundidades anteriormente citadas. Nas primeiras profundidades, a maior atividade da urease no plantio direto pode ser explicada por uma maior atividade microbiana neste sistema. Esta maior atividade biológica geralmente está associada a um acúmulo de matéria orgânica nas primeiras profundidades (De Maria e Castro, 1993). Segundo Kochhann (1996), sistemas de manejo do solo e de culturas, que provocam menores alterações e que permitem a manutenção de teores de matéria orgânica mais elevados, favorecem a manutenção da população microbiana. As correlações altamente significativas entre atividade da urease e teor de matéria orgânica (0,97\*\* e 0,87\*\*) e atividade da urease e N-biomassa (0,99\*\* e 0,85\*\*) confirmam a estreita ligação entre estas variáveis nas profundidades de 0-7,5 cm e 7,5-15 cm (Tabela 9). Nas demais profundidades, este comportamento não foi verificado, evidenciando uma menor interferência na hidrólise da uréia das variáveis N-biomassa e matéria orgânica.

Embora estatisticamente significativa somente para o plantio direto (Tabela 6 e Figura 2d), observou-se uma tendência de aumento na atividade da urease com a profundidade. No plantio direto, tal comportamento foi observado a partir da profundidade de 7,5-15 cm, e para os demais métodos de preparo do solo, desde a primeira profundidade. Diversos autores têm verificado um comportamento inverso, ou seja, geralmente a atividade da urease decresce com a profundidade (Myers e McGarity, 1968; Tabatabai, 1977; Gould, Cook e Webster, 1973; Santos, Furtini Neto e Vale, 1996).

Profundidade de	M	étodo de Preparo do Sol	0	
Amostragem	Plantio Direto	Arado Disco	Arado Aiveca	
0-7,5 cm	34,71aA	18,86aB	18.34aB	
7,5-15 cm	21,996А	19,40aA	18,23aA	
15-30 cm	25,50abA	24,46aA	23,42aA	
30-40 cm	36,27aA	28,31aB	27,27aB	

**TABELA 6.** Atividade média da urease (em μg de NH₄<sup>\*</sup>/g de solo/hora), em função dos métodos de preparo do solo e das profundidades de amostragem.

\*Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, e maiúsculas, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

Entretanto, Santos, Furtini Neto e Vale (1996), trabalhando com diferentes solos do Sul de Minas Gerais, afirmam que, embora exista uma tendência geral de decrescimo da atividade da urease com a profundidade, não existe similaridade neste comportamento, uma vez que em um Latossolo Roxo sob vegetação de Pinus ocorreu um sensível aumento na capacidade de hidrolise da uréia na camada de 60-80 cm, em comparação às demais profundidades. Os valores mais baixos de atividade da urease, nas primeiras profundidades, para os sistemas arado de disco e arado de aiveca, podem estar relacionados com uma maior desestruturação provocada pelo revolvimento do solo, possibilitando a degradação enzimática da urease. Na profundidade de 30 - 40 cm, esta interferência seria menor, estando as enzimas fisicamente protegidas. Para o plantio direto, este comportamento não era esperado, entretanto, como o experimento encontra-se no oitavo ano de implantação e, anteriormente, a área foi cultivada durante vários anos no sistema tradicional, com revolvimento de solo, o efeito da movimentação do solo antes da implantação do experimento poderia ser 0 responsável pelos valores próximos aos dos demais sistemas.

#### 4.3 Atividade da Urease e Produtividade do Milho

A atividade média da urease, na profundidade de 0-40 cm, foi significativamente maior no plantio direto, comparativamente aos métodos que utilizam arado de disco e arado de aiveca (Tabela 7). O mesmo comportamento foi verificado, de forma geral, para a produção de matéria seca total de plantas de milho e produção de grãos, não sendo detectadas diferenças somente para a produção de grãos no nível zero de nitrogênio (Tabela 7). As correlações entre atividade da urease e produção total de matéria seca (0,74\*\*) e atividade da urease e produção de grãos (0,67\*\*) evidenciam a estreita ligação entre a atividade desta enzima no solo e a produção da cultura do milho (Tabela 8 e Figuras 3 e 4). Portanto, os valores desta variável no solo podem estar intimamente relacionados com a qualidade destes ambientes para a produção agrícola. Kulinska, Camargo e Drozdowics (1982), trabalhando com solos de "cerradão" nativo e sob cultivo, constataram uma redução significativa na atividade da urease no solo sob influência antrópica, relacionando este fato a uma alteração significativa na qualidade do solo. Segundo Dick e Tabatabai (1992), a atividade enzimática pode ser usada como um indicativo do impacto de técnicas de uso da terra, pois relaciona-se diretamente com a qualidade do solo. Partindo deste pressuposto, observou-se que o método de preparo do solo, no qual não houve o revolvimento, ou seja o plantio direto, ofereceu as melhores condições biológicas para o desenvolvimento da cultura do milho.

A atividade elevada da urease, na profundidade de 0-7,5 cm, para o plantio direto, poderia provocar maiores perdas de nitrogênio por volatilização de amônia e lixiviação de nitrato, conforme fora ressaltado por Dick (1984), reduzindo a eficiência de utilização do N mineral, proveniente da hidrólise da uréia. Entretanto, as maiores produtividades de matéria seca total e grãos de milho, observadas para o plantio direto (Tabela 7), apontam para uma maior eficiência de utilização de N neste sistema, em relação aos demais. Klein e Koths (1980), comentando sobre essas possíveis perdas de nitrogênio, ressaltaram que este aumento de formas minerais de N, devido à hidrólise da uréia, poderia ser compensado pela elevação na sua imobilização, graças ao estímulo à microbiota.

**TABELA 7.** Atividade média da urease (µg de NH4<sup>+</sup>/g de solo/hora), produção de matéria seca total de plantas de milho (Kg/ha) e produção de grãos de milho (Kg/ha), em função da dose de nitrogênio aplicada e do método de preparo do solo.

Dose de N	Métodos	Atividade da	Produção de N	Aatéria Seca
(Kg/ha)	Preparo Solo	Urease	Total	Grãos
0	Plantio Direto	28,29a	7462a	3781a
	Arado Disco	22,13b	6973ab	3351a
	Arado Aiveca	21,37b	6377b	3298a
60	Plantio Direto	30,37a	11217a	5697a
	Arado Disco	22,85b	8451b	4423ab
	Arado Aiveca	22,07Ъ	7608b	4120b
120	Plantio Direto	29,47a	10683a	5815a
	Arado Disco	23,23b	9156b	4941b
	Arado Aiveca	22,10b	8025b	4509b
240	Plantio Direto	30,13a	9701a	5293a
	Arado Disco	22,81b	8786Ъ	4561ab
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	Arado Aiveca	21,20b	8065b	4400b

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, dentro de cada dose de N, não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

**TABELA 8.** Correlações entre atividade média da urease (em μg de NH4<sup>-</sup>/g de solo/hora), para as quatro épocas de amostragens, e produção de matéria seca total e de grãos de milho (Kg/ha).

Variáveis	Coef. de Correlação	Significância
Atividade Urease X MS Total	0,7382	0,0031
Atividade Urease X MS Graos	0,6706	0,0085

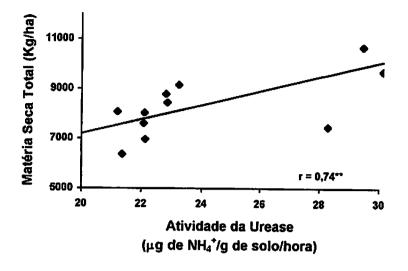


Figura 3. Representação gráfica da correlação entre atividade média da urease, para as quatro épocas de amostragem, e produção de matéria seca total de plantas de milho.

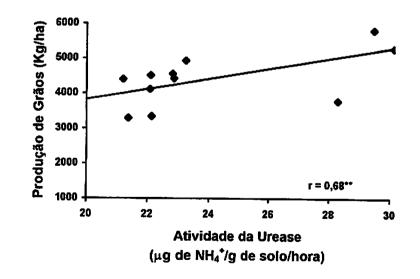


Figura 4. Representação gráfica da correlação entre atividade média da urease, para as quatro épocas de amostragem, e produção de grãos de milho.

### 4.4 Correlações entre a Atividade da Urease e Propriedades do solo

Realizaram-se análises de correlação entre a atividade média da urease e algumas das propriedades do solo, que mais interferem na atividade enzimática, comumente relacionadas pela literatura: N-biomassa, matéria orgânica do solo, pH, CTCefetiva e CTCtotal. A atividade média da urease, na profundidade de 0-40 cm, correlacionou-se positivamente e de forma altamente significativa somente com o N-biomassa (Tabela 9). Na profundidade de 0-7,5 cm e de 7,5-15 cm, a atividade da enzima correlacionou-se positivamente e de forma altamente significativa com o Nbiomassa, com a matéria orgânica e com a CTCefetiva. Na profundidade de 7,5-15 cm, foi também significativa e positiva a correlação com o pH. Nas duas últimas profundidades (15-30 cm e 30-40 cm) nenhum dos parâmetros estudados correlacionou-se significativamente com a atividade da urease. Geralmente, as correlações entre atividade da urease e CTC e pH são não significativas e, quando o são, os coeficientes de correlação são muito baixos (McGarity e Myers, 1967; Pancholy e Rice, 1972; Zantua, Dumenil e Bremner, 1977; Kumar e Wagenet, 1984; Santos, Vale e Santos, 1991). Entretanto, alguns estudos encontraram correlações altamente significativas entre atividade da urease e CTC (Dalal, 1975; Zantua, Dumenil e Bremner, 1977). O teor de carbono orgânico e matéria orgânica do solo são os parâmetros que mais apresentam correlações significativas com a atividade da urease, na literatura (Conrad, 1942; McGarity e Myers, 1967; Myers e McGarity, 1968; Gould, Cook e Webster, 1973; Tabatabai, 1973; Dalal, 1975; Zantua, Dumenil e Bremner, 1977). Contudo, Myers e McGarity (1968) ressaltam que outros fatores, tais como mineralogia, textura e gleização, podem interferir na correlação com o carbono orgânico. Diferentes variáveis que medem, de forma direta e indireta, a atividade microbiana do solo, tais como número de ureolíticos (Paulson e Kurtz, 1969), biomassa bacteriana (Nannipieri et al., 1979)

e N na biomassa (Perucci, 1990), correlacionam-se de forma altamente significativa com a atividade da urease, na maioria das vezes. Como pode ser observado, dependendo da profundidade, o estabelecimento de correlações entre as variáveis medidas e a atividade da urease foi bastante variável. A urease apresenta uma dinâmica muito peculiar no solo, pois sua atividade resulta da interação entre os fatores que determinam a sua fixação nos colóides do solo e os relacionados com a atividade biológica (Burns, 1982; Dick e Tabatabai, 1992). Portanto, o grupo de fatores que está predominando em uma determinado situação pode ser diferente de outra, e, ao agrupá-los, misturam-se os efeitos, sendo mascaradas possíveis correlações significativas.

Com o objetivo de identificar as variáveis que mais influenciaram a atividade da urease, nas diferentes profundidades e na média das profundidades (0-40 cm), ajustaram-se equações de regressão linear múltipla, com acréscimo seqüencial de variáveis (Modelo Stepwise), tendo como variável dependente a atividade da urease e como variáveis independentes o N-biomassa, o conteúdo de matéria orgânica do solo, o pH, a CTCefetiva e a CTCtotal (Tabela 2). O modelo utilizado pode ser representado pela equação genérica a seguir e o significado de cada componente encontra-se na Tabela 3:

$$Y = \alpha + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 - \beta_3 X_3 - \beta_4 X_4 - \beta_5 X_5$$

As equações obtidas estão representadas na Tabela 10. Foram altamente significativas as equações ajustadas para a profundidade 0-7,5 cm  $(0,97^{**})$ , para a profundidade de 7,5-15 cm  $(0,69^{**})$  e para a média das profundidades  $(0,87^{**})$ , sendo que a única variável independente envolvida foi o N-biomassa. Portanto, embora a atividade da urease tenha se correlacionado, nas primeiras profundidades, com outras variáveis independentes, além do N-biomassa (Tabela 9), coube a esta última a maior influência sobre a atividade enzimática.

Variáveis	Coef. de Correlação	Significância
Profundidade de 0-40 cm:		
Atividade Urease X N biomassa	0,9393	0,0000
Atividade Urease X Matéria Orgânica	-0,1411	0,3309
Atividade Urease X pH	-0,0619	0,4242
Atividade Urease X CTCefetiva	-0,1668	0,3022
Atividade Urease X CTCtotal	-0,4260	0,0837
Profundidade de 0-7,5 cm:		
Atividade Urease X N biomassa	0,9860	0,0000
Atividade Urease X Matéria Orgânica	0,9743	0,0000
Atividade Urease X pH	0,3732	0,1161
Atividade Urease X CTCefetiva	0,9874	0,0000
Atividade Urease X CTCtotal	-0,3499	0,1324
Profundidade de 7,5-15 cm:	······································	
Atividade Urease X N biomassa	0,8500	0,0002
Atividade Urease X Matéria Orgânica	0,8738	0,0001
Atividade Urease X pH	0,8744	0,0001
Atividade Urease X CTCefetiva	0,7651	0,0019
Atividade Urease X CTCtotal	0,4707	0,0612
Profundidade de 15-30 cm:		
Atividade Urease X N biomassa	0,3306	0,1469
Atividade Urease X Matéria Orgânica	0,3087	0,1645
Atividade Urease X pH	0,3806	0,1112
Atividade Urease X CTCefetiva	-0,1820	0,2857
Atividade Urease X CTCtotal	-0,1034	0,3745
Profundidade de 30-40 cm:		
Atividade Urease X N biomassa	-0,3221	0,1536
Atividade Urease X Matéria Orgânica	-0,0068	0,4916
Atividade Urease X pH	-0,3712	0,1174
Atividade Urease X CTCefetiva	-0,2653	0,2023
Atividade Urease X CTCtotal	-0,2390	0,2272

**TABELA 9.** Correlações entre atividade média da urease (em μg de NH<sub>4</sub><sup>-</sup>/g de solo/hora), em função da profundidade e algumas propriedades do solo.

TABELA 10. Equações de regressão linear múltipla, com acréscimo sequencial de variáveis, (Modelo Stepwise), para atividade da urease (AU) em função de N na biomasssa (Nbiom), matéria orgânica do solo (MO), pH (pH), CTCefetiva (CTCe) e CTCtotal (CTCt).

Descrição	Equação	R <sup>2</sup>	Signif,
Prof. 0-40 cm	AU = 7,425622 + 0,417557 Nbiom	0,8706	0,0000
Prof. 0-7,5 cm	AU = 6,781690 + 0,321885 Nbiom	0,9693	0,0000
Prof. 7,5-15 cm	AU = 15,227621 + 0,103996 Nbiom	0,6946	0,0005
Prof. 15-30 cm*			
Prof. 30-40 cm	AU = 82,482677 - 5,197029 CTCt	0,3186	0,0326

\*Para a profundidade de 15-30 cm, nenhuma das variáveis testadas apresentou-se significativamente relacionada com a atividade da urease, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Para a profundidade de 30-40 cm, a única variável a compor a equação foi a CTCtotal, entretanto com ajuste muito baixo,  $R^2 = 0,3186$  (Tabela 10). Os dados para a profundidade 15-30 cm não se ajustaram ao modelo, sendo que nenhuma das variáveis independentes afetou de forma significativa a atividade da urease. Estes resultados corroboram as correlação efetuadas nestas profundidades (Tabela 9), que não foram significativas para nenhuma das variáveis testadas. Ao que parece, outras variáveis não abordadas exercem um efeito marcante na atividade da urease nestes locais, limitando a expressão das variáveis medidas.

A equação ajustada para a média das profundidades (0-40 cm) evidenciou a influência marcante da atividade biológica na capacidade de hidrólise da uréia, para o solo estudado. O ajuste de 0,87\*\* indicou que, apesar de outros fatores estarem influênciando a atividade enzimática, principalmente nas duas últimas profundidades (15-30 cm e 30-40 cm), a atividade biológica, ainda sim, foi mais importante.

As equações ajustadas para as profundidades de 0-7,5 cm, 7,5-15 cm e média das profundidades apresentaram somente duas componentes  $\alpha \in \beta_l X_l$ . A componente  $\beta_l X_l$  representa a influência do N contido na biomassa na atividade da urease, que é uma forma indireta de se medir a influência da atividade biológica (Siqueira et al., 1994). Conforme já fora mencionado, admite-se que a atividade da urease é influenciada basicamente por dois grupos de fatores, aqueles relacionados à atividade biológica e aqueles relacionados à fixação desta enzima aos colóides minerais e orgânicos do solo. A componente  $\alpha$ , portanto, representa nas equações ajustadas a atividade da urease que independe da atividade biológica, podendo ser considerada a atividade proveniente de enzimas livres, fixadas aos colóides do solo.

Considerando os dados de N-biomassa, estimaram-se, através das equações ajustadas, os valores de atividade da urease para as profundidades 0-7,5 cm e 7,5-15 cm (Tabela 11), além das participações relativas da atividade da urease relacionadas à atividade biológica. Nas demais profundidades, a atividade da urease e as participações relativas não foram estimadas, pois as curvas não se ajustaram aos dados.

Nas duas profundidades, a percentagem de atividade da urease relacionada com a fixação foi menor no plantio direto, evidenciando a maior influência da atividade biológica neste sistema de preparo do solo (Tabela 11). Os percentuais estimados de atividade da urease relacionada com a fixação aos colóides do solo, na profundidade de 7,5-15 cm, encontram-se próximos aos valores observados na literatura. Paulson e Kurtz (1969), trabalhando com amostras de solo de 0-10 cm de profundidade, concluiram que a atividade da urease fixada aos colóides do solo representava de 79-89% da atividade total, quando a microbiota encontrava-se em equilíbrio.

Por outro lado, os mesmos autores relataram que durante o periodo de incubação, no pico da atividade biológica, a atividade enzimática relacionada à urease fixada permaneceu em torno de um terço do total. De forma análoga, no presente trabalho, a profundidade de 0-7,5 cm, na qual foi observada a maior atividade biológica, apresentou valores de atividade relacionada à urease fixada, entre 20 e 37% do total.

TABELA 11. Atividade da urease estimada a partir dos valores observados de N-biomassa, através das equações de regressão múltipla ajustadas para as profundidades de 0-7,5 cm e 7,5-15 cm.

Profundidades de		Método de Preparo do S	olo
Amostragem	Plantio Direto	Arado de Disco	Arado de Aiveca
0-7,5 cm	34,49 (20%)	18,67 (36%)	18,24 (37%)
7,5-15 cm	22,05 (69%)	18,94 (80%)	18,63 (82%)

\* Os valores entre parênteses representam a percentagem da atividade da urease que está relacionada com a enzima fixada aos colóides do solo ( $\alpha$  da equação x 100/ valor estimado de atividade da urease).

A maior atividade enzimática relacionada à atividade biológica para o plantio direto, na profundidade de 0-7,5 cm, durante o ciclo da cultura do milho, evidencia um ambiente mais dinâmico, em que a matéria orgânica esteve constantemente sendo metabolizada pela microbiota, proporcionando melhores condições para a ciclagem de nutrientes. Desta maneira, conforme pode ser observado nas discussões anteriores, a atividade da urease constitui um parâmetro extremamente útil na análise da qualidade dos solos em áreas cultivadas, podendo ser utilizada em programas de pesquisa visando avaliar o impacto de métodos de cultivo na dinâmica da matéria orgânica do solo e na ciclagem de nutrientes.

#### **5 CONCLUSÕES**

O sistema de plantio direto apresentou, em geral os maiores valores de atividade da urease, para todas as épocas e profundidades, destacando-se como o método de preparo do solo que mais beneficiou a atividade biológica, o que foi refletido em sua maior produtividade de matéria seca total e de grãos de milho.

A atividade da urease foi sensível às alterações do meio, causadas pelos diferentes métodos de preparo do solo, mostrando-se um parâmetro capaz de para avaliar as condições gerais do ambiente solo.

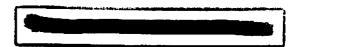
Embora a atividade da urease tenha se correlacionado, com vários parâmetros de solo, o N-biomassa foi a característica que exerceu a maior influência sobre a atividade enzimática total.

Levando-se em consideração que o experimento, hoje no oitavo ano de cultivo, foi instalado em uma área de cultivo convencional (uso de arado de disco e gradagem) com mais de 20 anos de histórico, o sistema de manejo em plantio direto propiciou melhorias significativas no sistema produtivo, sendo identificadas por alterações nas características bioquímicas (atividade da urease) e biológicas (N-biomassa), com reflexo direto e positivo na produção de milho.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (eds.) Urease activity. In: <u>Mehods in applied soil</u> microbiology and biochemistry. London: Academic Press, 1995. p.316-320.
- ASSOCIAÇÃO DE PLANTIO DIRETO NO CERRADO. Direto no Cerrado. Goiânia, 1996. 10p. (Folheto, 1)
- BLEVINS, R.L.; THOMAS, G.W.; CORNELIUS, P.L. Influence of no-tillage and nitrogen fertilization on certain soil properties after 5 years of continuous corn. Agronomy Journal, Madison, v. 69, n. 3, p. 383-386, May/June 1977.
- BOYD, S.A.; MORTLAND, M.M. Urease activity on a clay organic complex. Soil Science Society America Journal, Madison, v.49, n.3, p. 619-622, May/June 1985.
- BREMNER, J.M.; MULVANEY, R.L. Urease activity in soil. In: BURNS, R.G. (ed.). Soil enzymes. London: Academic Press. 1978. p. 149-196.
- BREMNER, J.M.; MULVANEY, R.L. Nitrogen total. In: BLACK, C.A. (ed.). Methods of soil analysis. Madison: American Society of Agronomy, 1982. p.595-622.
- BURNS, R.G. Enzyme activity in soil location and a possible role in microbial ecology. Soil Biology Biochemistry, Oxford, v.14, n.4, p.423-427, Apr. 1982.
- BURNS, R.G.; PUKITE, A.H.; McLAREN, A.D. Concerning the location and persistence of soil urease. Soil Science Society America Proceedings, Madison, v.36, n. 2, p.308-311, Mar/Apr. 1972.

- CAMPOS, H. Estatística aplicada à experimentação com cana-de-açúcar. São Paulo: FEALQ, 1984. 291 p.
- CONRAD, J.P. The nature of the catalyst causing the hydrolisis of urea in soils. Soil Science, Baltimore, v.50, p.119-134, July/Dec. 1940.
- CONRAD, J.P. The occurence and origin of urease like activities in soils. Soil Science, Baltimore, v.54, p.367-380, July/Dec. 1942.
- DALAL, R.C. Urease activity in some Trinidad soils. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 7, n. 1, p. 5-8, Jan./Feb. 1975.
- DAY, P.R. Particle fractionation and particle-size analysis. In: BLACK, C.A., (ed.). Methods of soil analysis; physical and mineralogical properties, including statistics of measurement and sampling. Madison: American Society of Agronomy, 1965. p. 545-566.
- DE MARIA, I.C.; CASTRO, O.M. Potássio e matéria orgânica em um Latossolo Roxo, sob sistemas de manejo com milho e sorgo. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, v,17, n. 3, p. 471-477, out./dez. 1993.
- DICK, W.A. Organic carbon, nitrogen, and phosphorus concentrations and pH in soil profiles as affected by tillage intensity. Soil Science Society America Journal, Madison, v. 47, n.1, p. 102-107, Jan./Feb. 1983.
- DICK, W.A. Influence of long-term tillage and crop rotation combinations om soil enzyme activities, Soil Science Society America Journal, Madison, v. 48, n.3, p.569-574, May/June 1984.
- DICK, W.A.; TABATABAI, M.A. Significance and potencial uses of soil enzymes. In: METTING Jr, F.B. (ed.). Soil microbial ecology: application in agricultural and environmental management. New York, Marcel Dekker, 1992. 432 p.
- DORAN, J.W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. Soil Science Society America Journal, Madison, v. 44, n. 4, p.765-771, July/Aug. 1980.



44

- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Serviço nacional de levantamento e conservação do solo: manual de métodos de análise do solo. Rio de Janeiro, 1979. 378 p.
- ENSMINGER, L.E.; GIESEKING, J.E. Resistence of clay adsorbed proteins to proteolytic hydrolysis. Soil Science, Baltimore, v. 53, p. 205-209, Jan./July 1942.
- FOLLETT, R.F.; SCHIMEL, D.S. Effect of tillage pratices on microbial biomass dynamics. Soil Science Society America Journal, Madison, v. 53, n.4, p. 1091-1096, July/Aug. 1989.
- GIANFREDA, L.; RAO, M.A.; VIOLANTE, A. Adsorption, activity and kinetic properties of urease on montmorillonite, aluminium hydroxide and Al(OH)x-montmorillonite complexes. Soil Biology Biochemistry, Oxford, v. 24, n.1, p. 51-58, Jan. 1992.
- GOULD, W.D.; COOK, F.D.; WEBSTER, G.R. Factors affecting urea hydrolysis in several Alberta soils. Plant and Soil. The Hague, v.38, n.2, p. 393-401, Mar./Apr. 1973.
- JONES, J.N.; MOODY, J.E.; SHEAR, G.M.; MOSCHLER, W.W.; LILLARD, J.H. The notillage system for corn (Zea mays L.). Agronomy Journal, Madison, v.60, n.1, p. 17-20, Jan./Feb. 1968.
- JUO, A.S.R.; LAL, R. Nutrient profile in a tropical alfisol under conventional and no-till sistems. Soil Science, v. 127, n.3, p. 168-173, Mar. 1979.
- KLEIN, T.M.; KOTHS, J.S. Urease, protease, and acid phosphatase in soil continuously cropped to corn by conventional or no-tillage methods. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v.12, n. 3, p. 293-294, May/June 1980.
- KOCHHANN, R.A. Alterações das características físicas, químicas e biológicas do solo sob sistema de plantio direto. In: CONFERÊNCIA ANUAL DE PLANTIO DIRETO, 1, Passo Fundo, 1996, Resumos... Passo Fundo: Aldeia Norte, 1996. p. 17-25.
- KULINSKA, D.; CAMARGO, V.L.L.; DROZDOWICZ, A. Enzyme activities in "Cerrado" soils in Brazil. Pedobiologia, Rio de Janeiro, v. 24, n. 1, p. 101-107, Jan. 1982.
- KUMAR, V.; WAGENET, R.J. Urease activity and kinetcs of urea transformation in soils. Soil Science, Baltimore, v. 137, n. 4, p. 263-269, Apr. 1984.

÷...

LAI, C.M.; TABATABAI, M.A. Kinetic parameters of immobilized urease. Soil Biology Biochemistry, Oxford, v.24; n.3, p. 225-228, Mar. 1992.

· ·

- LLOYD, A.B.; JANE SHEAFFE, M. Urease activity in soils. Plant and Soil, The Hague, v.39, n. l, p.71-80, Nov./Dec. 1973.
- McGARITY, J.W.; MYERS, M.G. A survey of urease activity in soil of northern new south wales. Plant and Soil, The Hague, v. 27, n. 2, p. 217-238, Oct. 1967.
- MYERS, M.; McGARITY, J.W. The urease activity in profiles of five great soil groups from northern new south wales. Plant and Soil, The Hague, v. 28, n. 1, p. 25-37, Feb. 1968.
- NANNIPIERI, P.; CECCANTI, B.; CERVELLI, S.; SEQUI, P. Stability and kinetic properties of humus-urease complexes. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v.10, n.2, p. 143-147, Mar./Apr. 1978.
- NANNIPIERI, P.; MUCCINI, L.; CIARD, C. Microbial biomass and enzyme activities: production and persistence. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 15, n.6, p. 679-685, Nov./Dec. 1983.
- NANNIPIERI, P.; PEDRAZZINI, F.; ARCARA, P.G.; PIOVANELLI, C. Changes in amino acids, enzyme activities, and biomasses during soil microbial growth. Soil Science, Baltimore, v. 127, n. 1, p. 26-34, Jan. 1979.
- PALMA, R.M.; CONTI, M.E. Urease activity in argentine soils: field studies and influence of sample tratment. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 22, n. 1, p. 105-108, Jan./Feb. 1990.
- PANCHOLY, S.K.; RICE, E.L. Effect of storage conditions on activities of urease, invertase, amylase, and dehydrogenase in soil. Soil Science Society of America Proceedings, Madison, v. 36, n.3, p.536-537, May/June 1972.
- PARCSON, S.T.; GRAY, J.R.G.; WILLIAN, S.T. Methods for studing the ecology of soil microrganisms. London: IBB, 1971. p.83 84. (Hand Book, 19).

45

- PAULSON, K.N.; KURTZ, L.T. Locus of urease activity in soil. Soil Science Society America Proceeding, Madison, v. 33, n. 6, p. 897-901, Nov./Dec. 1969.
- PERUCCI, P. Effect of the addition of municipal soid-waste compost on microbial biomass and enzyme activities in soil. Biology and Fertility of Soils, Heidelberg, v.10, n. 1, p. 221-226, Jan. 1990.
- PETTIT, N.M.; SMITH, A.R.J.; FREEDMAN, R.B.; BURNS, R.G. Soil urease: activity, stability and kinetic properties. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v.8, n.4, p. 478-484, July/Aug. 1976.
- PHILLIPS, S.H. Introdution to no-tillage. In: PHILLIPS, R.E. e PHILLIPS, S.H.,(eds.) Notillage agriculture-principles and pratices. New York: Wan Nostrand Reinhold, 1984. p. 1-9.
- PINCK, L.A.; ALLISON, F.E. Adsorption and release of urease by and from clay minerals. Soil Science, Baltimore, v.91, n.2, p. 183-188, Feb. 1961.
- PRUDEN, G.; KALEMBASA, S.J.; JENKINSON, D.S. Reduction of nitrate prior to Kjeldahl digestion. Journal of Science Food Agriculture, Chicago, v. 36, n. 1, p. 71 - 73, Jan./Feb. 1985.
- RAIJ, B.V.; QUAGGIO, J.A. Métodos de análise de solo para fins de fertilidade. Campinas: Instituto Agronômico, 1983. 31p. (Boletim, 81).
- SÁ, J.C.M. Manejo da fertilidade do solo no plantio direto. Castro: Aldeia Norte/Fundação ABC, 1993. 96p.
- SANTOS, A.R.; FURTINI NETO, A.E. VALE, F.R.do; Umidade e profundidade do solo na hidrólise da uréia em solos do Sul de Minas Gerais. Revista Brasileira de Ciências do Solo, Campinas, v. 20, n. 1, p. 33-40, jan./abr., 1996.
- SANTOS, A.R.; VALE, F.R. DO; SANTOS, J.A.G. Avaliação de parâmetros cinéticos da hidrólise da uréia em solos do Sul de Minas Gerais. Revista Brasileira de Ciências do Solo, v. 15, n. 2, p. 309-313, jun./set. 1991.

- SARKER J.M.; BURNS R.G. Synthesis and properties of D-glucosidase-phenolic copolymers as analogues of soil humic-enzyme complexes. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v.16, n. 6, p. 619-625, Nov./Dec. 1984.
- SHEAR, G.M.; MOSCHLER, W.W. Continous corn by the no-tillage na conventional tillage methods: a six-year comparison. Agronomy Journal, Madison, v. 61, n.4, p. 524-526, July/Aug. 1969.
- SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas. Brasília: MEC/ESAL/FAEPE/ABEAS, 1988. 235 p.
- SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S; GRISI, B.M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 105 p.
- SPEIR, T.W.; ROSS, D.J. Temporal stability of enzymes in a peatland soil profile. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 22, n. 7/8, p. 1003-1005, Dec. 1990.
- STEVENSON, F.J. Cycles of soil: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. New York: John Wiley & Sons, 1986. 380 p.
- STOJANOVIC, B.L. Hydrolisis of urea in soil as affected by season and by added urease. Soil Science, Baltimore, v. 88, n. 3, p. 251-255, Sept. 1959.
- TABATABAI, M.A. Michaelis constants of urease in soils and soils fractions. Soil Science Soceity America Proceeding, Madson, v.37, n.5, p.707-710, Sept./Oct. 1973.
- TABATABAI, M.A. Effects of trace elements on urease activity in soil. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v.9, n. 1, p. 9-13, Jan./Feb. 1977.
- TRIPLETT JR., G.B.; VAN DOREN JR., D.M. Nitrogen, phosphorus, and potassium fertilization for no-tilled maize. Agronomy Journal, Madison, v.61, n. 4, p. 637-639, July/Aug. 1969.
- VETTORI, L. Métodos de análise do solo. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1969. 24p. (Boletim Técnico, 7).

- ZANTUA, M.I.; BREMNER, J.M. Prodution and persistence of urease activity in solis. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v.8, n.3, p.369-374, May/June 1976.
- ZANTUA, M.I.; BREMNER, J.M. Stability of urease in soils. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v.9, n.1, p. 135-140, Jan./Feb. 1977.
- ZANTUA, M.I.; DUMENIL, L.C.; BREMNER, J.M. Relatioships between soil urease activity and other soil properties. Soil Science Society American Journal, Madison, v. 41, n.2, p. 350-352, Mar./Apr. 1977.

#### ANEXOS

Anexo 1. Análise de variância em parcelas sub-divididas, para os valores de atividade da urease em função do método de preparo do solo (parcelas) e da dose de nitrogênio (sub-parcelas), nas diferentes profundidades.

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	Signif.
Bloco	3	121,3738	40,4779	6,97	0,0221
Método de Preparo (M)	2	2864,9560	1432,4780	55,28	0,0001
Resíduo (a)	6	155,4796	25,9132		
PARCELAS	11	3141,8094			
Dose de N (D)	3	35,9329	11,9776	2,06	0,1287
M x D	6	47,6150	7,9358	1,37	0,2635
Resíduo (b)	27	156,7845	5,8068		
TOTAL	47	3382,1410	** , , , <u>-</u>		·· · ·

### Profundidade de 0-7,5 cm:

### Profundidade de 7,5-15 cm:

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	Signif.
Bloco	3	88,2417	29,4139	6,36	0,0271
Método de Preparo (M)	2	118,9751	59,4853	2,10	0,2035
Resíduo (a)	6	170,2754	28,3792		
PARCELAS	11	377,4922	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		
Dose de N (D)	3	32,1016	10,7005	2,31	0,0984
M x D	6	18,6623	3,1104	0,67	ns
Resíduo (b)	27	124,8477	4,6240		
TOTAL	47	553,1037			

## Profundidade de 15-30cm:

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	Signif.
Bloco	3	1368,0130	456,0042	42,41	0,0002
Método de Preparo (M)	2	34,7127	17,3563	0,93	ns
Resíduo (a)	6	112,1105	18,6851	-	
PARCELAS	11	1514,8362			
Dose de N (D)	3	4,2784	1,4262	0,13	ns
M x D	6	77,3734	12,8956	1,20	0,3367
Residuo (b)	27	290,3065	10,7521	-	
TOTAL	47	1886,7940			

# Profundidade de 30-40 cm:

1.1

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	Signif.
Bloco	3	1516,4500	520,1501	30,31	0,0005
Método de Preparo (M)	2	777,2148	388,6074	9,23	0,0480
Residuo (a)	6	252,6608	42,1101		
PARCELAS	11	2590,3256			
Dose de N (D)	3	5,4071	1,8024	0,11	ns
M x D	6	81,0587	13,5098	0,79	ns
Resíduo (b)	27	463,3801	17,1622		
TOTAL	47	3140,1720			

Anexo 2. Análise de variância de grupos de experimentos em parcelas subdivididas, em que os experimentos são representados pelas profundidades, as parcelas são constituídas pelos diferentes métodos de preparo do solo e as subparcelas pelas doses de nitrogênio.

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	Signif.
Profundidades (P)	3	2838,7253	946,2418	3,49	0,0901
Método de Preparo (M)	2	2372,9494	1186,4747	5,00	0,0527
PxM	6	1422,9070	237,1517	6,33	0,0000
Blocos de Profundidades	12	3138,0785	261,5065	-	-
Resíduo (a)	24	690,5285	28,7720	-	-
PARCELAS	47	10463,1887			
Dose de'N (D)	3	46,2403	15,4134	4,40	0,0363
PxD	9	31,4796	3,4977	0,34	-
M x D	6	40,6380	6,7730	0,66	-
P x M x D	18	184,0714	10,2262	1,07	0,3919
Resíduo (b)	108	1035,3136	9,5863	-	
TOTAL	191	11800,9341			