



Atividade da urease em um Argissolo Vermelho-Amarelo⁽¹⁾.

**Mateus de Paula Gomes⁽²⁾; Ariana Mota Pereira⁽³⁾; Rafaela Felix da França⁽⁴⁾;
Gabriela Cemirames de Sousa Gurgel⁽⁵⁾; Juliano Bahiense Stafanato⁽⁶⁾; Everaldo
Zonta⁽⁷⁾.**

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da PETROBRAS.

⁽²⁾ Mestrando do Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; Seropédica, Rio de Janeiro; mateus.gomes@ufv.br; ⁽³⁾ Mestranda em Fisiologia Vegetal; Universidade Federal de Viçosa; ⁽⁴⁾ Graduando em Agronomia; UFRRJ; ⁽⁵⁾ Doutoranda do Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo; UFRRJ; ⁽⁶⁾ Pós-doutorando do Departamento de Solos; UFRRJ; ⁽⁷⁾ Professor associado do Departamento de Solos, Instituto de Agronomia da UFRRJ; Seropédica, Rio de Janeiro; ezonta@ufrj.br.

RESUMO:

A enzima urease, presente no solo, é a responsável pela hidrólise da ureia, produzindo amônia, que poderá ser perdida por volatilização, o que reduz a eficiência da adubação nitrogenada à base de ureia. Devido a isso, diversos estudos são realizados visando reduzir a ação enzimática da urease. Objetivou-se com este estudo, avaliar a atividade da urease em diferentes tempos de incubação. Utilizou-se como substrato a ureia perolada comercial e ureia aditivada com NBPT 0,06%. A enzima foi incubada com a solução fertilizante por períodos de 2, 4, 6, 24 e 36 horas. A atividade enzimática foi quantificada através do método proposto por May & Douglas (1976), modificado por Longo et al. (1991). Verificou-se que a atividade enzimática aumentou de modo significativo das duas as trinta e seis horas de incubação, devido ao maior tempo disponível para a enzima reagir com o substrato. Quanto à velocidade da hidrólise, nota-se uma tendência de diminuição com aumento dos tempos, para a ureia aditivada com NBPT 0,06% notou-se um expressivo efeito inibitório após as 6 horas de incubação. Conclui-se que a escolha do tempo de incubação depende do objetivo do estudo.

Termos de indexação: Ureia, NBPT, Amônia.

INTRODUÇÃO

A enzima uréase, encontrada em quase todos os tipos de solos, é a responsável pelo processo de hidrólise da ureia, sua atividade é afetada por variações de umidade, temperatura, pH e concentração de substrato no solo (ZANTUA; BREMNER, 1977; LONGO; MELO, 2005).

A ureia é o fertilizante mais utilizado na agricultura, devido ao seu elevado teor de nitrogênio e o baixo custo por unidade do nutriente (URQUIAGA; MALAVOLTA, 2002). Porém, o aproveitamento pela planta, do nitrogênio aplicado via ureia é muito baixo, devido principalmente às grandes perdas que ocorrem por volatilização de amônia, que podem ultrapassar os 70% (LARA CABEZAS et al., 1997;

CANTARELLA, 2007). Essas perdas ainda podem ser agravadas em sistemas de cultivo mínimo, como o sistema de plantio direto, onde os restos vegetais favorecem a rápida hidrólise do fertilizante devido ao aumento da presença da enzima urease (LARA CABEZAS et al., 1997).

Diversos estudos têm sido realizados na tentativa de aumentar a eficiência dos fertilizantes à base de ureia, através da redução das perdas por volatilização de NH₃. Uma das alternativas mais promissoras é o tratamento desses fertilizantes com inibidores da enzima urease (CANTARELLA et al., 2008; SCIVITTARO et al., 2010; CIVARDI et al., 2011). Dentre os inibidores conhecidos, o NBPT [n-(n-butil) triamidatofosfórica], é um dos que têm sido mais estudados, ele apresenta características como o teor de N, solubilidade e difusividade similares à da ureia (WATSON, 2000).

Objetivou-se com esse estudo avaliar a atividade da urease em um Argissolo Vermelho-Amarelo.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório Solo Planta (LSP) do Departamento de Solos do Instituto de Agronomia da UFRRJ, Seropédica/RJ.

O solo foi coletado em Seropédica, no Km 47 da BR – 465, em uma área de pastagem. Logo em seguida foi destorroado e peneirado.

A atividade da urease foi quantificada pelo método de May & Douglas (1976), modificado por Longo et al. (1991). Para a realização das análises adicionou-se 3,0 g de solo em erlenmeyer de 50 mL, adicionando-se 0,5 mL de tolueno e 12,0 mL de água destilada. Em seguida, procedeu-se a incubação a 30° C por 10 minutos, posteriormente adicionou-se 3 mL de solução de ureia 1M. As amostras foram incubadas por 2, 4, 6, 24 e 36 horas a 30° C, ao fim de cada incubação acrescentou-se 15 mL de solução de KCl 2 mol L⁻¹ com 5 mg de acetato de fenil mercúrio, e agitou-se por 5 minutos, procedendo-se a filtragem em seguida. O teor de N-amoniacal



trocável, foi determinado através do método de destilação a vapor (Bremner & Keeney, 1965). Para cada tratamento, realizou-se um branco, da maneira acima descrita, porém adicionando-se a solução de uréia após a solução de KCl + acetato de fenil mercúrio. Do filtrado foram utilizados 10 mL para a destilação, em seguida, titulou-se com solução padronizada de ácido sulfúrico 0,0025 mol L⁻¹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram expressos em mg N-NH₄ Kg⁻¹ de solo e submetidos ao teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Analisando a **figura 1**, nota-se que a atividade ureolítica da enzima reduziu nos maiores tempos de incubação, fato que pode ser comprovado dividindo-se os valores de N-NH₄ formado, pelos tempos de incubação. Longo & Melo (2005), observaram uma redução de 30% na velocidade da hidrólise da ureia ao elevar o tempo de incubação de 1 para 8 horas, em um Latossolo Vermelho Aluminoférrico típico, e uma redução de 33% nas primeiras 4 horas, para um Latossolo Vermelho distrófico típico.

Nota-se (**figuras 1 e 2**) que o NBPT reduziu a atividade enzimática, inibindo drasticamente a enzima a partir das 6 horas de incubação. O NBPT tem que ser convertido ao seu análogo de oxigênio [N-(n-butil) fosfóricotriamida] – NBPTO – que é o verdadeiro inibidor da atividade (CHRISTIANSON et al., 1990). A conversão do NBPT em NBPTO é rápida em solos bem arejados, ocorrendo em alguns minutos ou horas, porém pode levar vários dias em condições de solos inundados (WATSON, 2000).

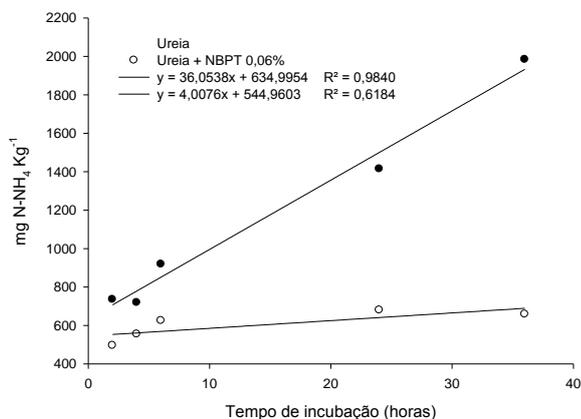


Figura 2 – mg N-NH₄ Kg⁻¹ de solo, a partir da ureia convencional e aditivada com NBPT 0,06%.

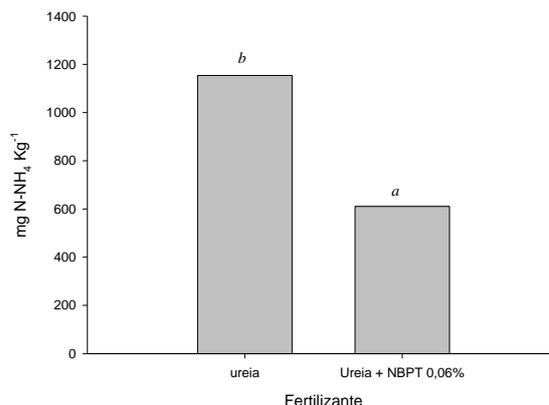


Figura 2 – mg N-NH₄ Kg⁻¹ de solo. Letras diferentes entre as colunas indicam que as médias diferem entre si para o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

O NBPT inibiu a atividade da enzima após 6 horas de incubação.

A atividade ureolítica da enzima reduz com o aumento do tempo de incubação.

REFERÊNCIAS

a. Periódicos:

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P. C. O.; CONTIN, T. L. M.; DIAS, F. L. F.; ROSSETTO, R.; MARCELINO, R.; COIMBRA, R. B.; QUAGGIO, J. A. Ammonia volatilisation from urease inhibitor-treated urea applied to sugarcane trash blankets. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.65, n.4, p.397-401, 2008.

CHRISTIANSON, C. B.; BYRNES, B. H.; CARMONA, G. A comparison of the sulfur and oxygen analogs of phosphoric triamide urease inhibitors in reducing urea hydrolysis and ammonia volatilization. **Fertilizer Research**, v.26, n.1-3, p.21-27, 1990.

CIVARDI, E. A.; SILVEIRA NETO, A. N.; RAGAGNIN, V. A.; GODOY, E. R.; BROD, E. Slow-release urea applied to surface and regular urea incorporated to soil on maize yield. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiás, v.41, n.1, p.52-59, 2011.

LARA CABEZAS, W. A. R.; KORNDORFER, G. H.; MOTTA, S. A. Volatilização de N-NH₃ na cultura de milho: I. Efeito da irrigação e substituição parcial da ureia por sulfato de amônio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.21, n.3, p.481-487, 1997.

LONGO, R. M.; MELO, W. J. Urea hydrolysis in oxisols: effects of substrate concentration, temperature, pH, incubation time and storage conditions. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, n.4, p.651-657, 2005.



MAY, P.B. & DOUGLAS, L.A. Assay for soil urease activity. *Plant Soil*, 45:301-305, 1976.

OLIVEIRA, C. T.; FONTES, R. L. F.; REZENDE, S. T.; V. ALVAREZ, V. H. EFFECTS OF NICKEL AND NITROGEN SOIL FERTILIZATION ON LETTUCE GROWTH AND UREASE ACTIVITY. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, 37:698-706, 2013.

SCIVITTARO, W. B.; GONÇALVES, D. R. N.; VALE, M. L. C.; RICORDI, V. G. Nitrogen losses by ammonia volatilization and lowland rice response to NBPT urease inhibitor-treated urea. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.6, p.1283-1289, 2010.

URQUIAGA, S.; MALAVOLTA, E. Ureia: um adubo orgânico de potencial para a agricultura orgânica. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v.19, n.2, p.333-339, 2002.

WATSON, C. J. **Urease activity and inhibition** – Principles and practice. London: The International Fertilizer Society. Proceedings n.454, 2000. 40p.

WITTE, C.D; MEDINA-ESCOBAR, N. In-Gel Detection of Urease with Nitroblue Tetrazolium and Qualification of the Enzyme from Different Crop Plants Using the Indophenol Reaction. *Analytical Biochemistry* 290, 102-107 (2001).

ZANTUA, M. I.; BREMNER, J. M. Stability of urease in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.9, n.2, p. 135-140, 1977.

b. Trabalho em Anais:

CANTARELLA, H.; MARCELINO, R. Uso de inibidor de uréase para aumentar a eficiência da ureia. In: SIMPÓSIO SOBRE INFORMAÇÕES RECENTES PARA OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA, 2007, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: IAC, 2007. 1 CD-ROM. 19p