

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

LAYANE CAROLINA DE OLIVEIRA GONÇALVES

**INIBIÇÃO DA NITRIFICAÇÃO BIOLÓGICA NO SOLO EM FUNÇÃO DO
CULTIVO DE FORRAGEIRAS**

Monte Carmelo – MG

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

LAYANE CAROLINA DE OLIVEIRA GONÇALVES

**INIBIÇÃO DA NITRIFICAÇÃO BIOLÓGICA NO SOLO EM FUNÇÃO DO
CULTIVO DE FORRAGEIRAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Agronomia, *Campus* Monte Carmelo, da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

Orientador: Prof. Dr. Edmar Isaias de Melo

Monte Carmelo – MG

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

LAYANE CAROLINA DE OLIVEIRA GONÇALVES

**INIBIÇÃO DA NITRIFICAÇÃO BIOLÓGICA NO SOLO EM FUNÇÃO DO
CULTIVO DE FORRAGEIRAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Agronomia, *Campus* Monte Carmelo, da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenheira Agrônoma.

Monte Carmelo, 07 de Junho de 2019.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Edmar Isaias de Melo
Orientador

Profa. Dra. Cinara Xavier de Almeida
Membro da Banca

Prof. Dr. Ricardo Falqueto Jorge
Membro da Banca

Monte Carmelo – MG

2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por todas as oportunidades e bênçãos, em toda minha trajetória durante a graduação e por estar sendo tão presente em minha vida nessa reta final.

Agradeço a Universidade Federal de Uberlândia Campus de Monte Carmelo pela formação acadêmica.

Agradeço principalmente aos meus pais Belchior e Patrícia e meus irmãos Matheus, Luciano e Willian pelo apoio e atenção, sempre estando do meu lado, ajudando a superar as dificuldades, dando suporte para conseguir vencer essa etapa tão importante da minha vida e por terem me ensinado a ter caráter, responsabilidade e nunca desistir dos meus objetivos.

Agradeço ao meu Orientador Dr. Edmar que passa inspiração pelo amor que tem a sua profissão e que ao longo da minha graduação sempre foi como um pai, me passando seus conhecimentos e conselhos.

Aos membros da banca avaliadora, pela disponibilidade em estar presente e sugerirem melhorias ao trabalho.

Meus agradecimentos aos meus amigos, Nayara Cristina, Rodrigo Pereira, Camila Isabel, Amanda Fernandes, Luís Fernando, Edson Mateus, Nena, Neidiele, Bruna e Izaura companheiros de trabalhos que fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida.

A todos aqueles que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização do presente trabalho e desta etapa em minha vida.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	5
2	OBJETIVO	5
3	REFERENCIAL TEÓRICO	6
4	MATERIAL E MÉTODOS	9
4.1	Respiração basal do solo - RBS.....	10
4.2	Potencial hidrogeniônico	11
4.3	Determinação da taxa de nitrificação do solo	11
4.4	Análise dos resultados.....	13
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
5.1	Parâmetros de desenvolvimento das plantas	13
5.2	pH e atividade microbiana	14
5.3	Taxa de nitrificação	16
6	CONCLUSÕES.....	17
7	REFERÊNCIAS	18

RESUMO

O uso de espécies do gênero *brachiaria* afetam o funcionamento do ciclo do nitrogênio no solo, podendo provocar alterações no processo de nitrificação que nada mais é do que uma sequência do processo de mineralização realizada principalmente por bactérias quimioautotróficas. Assim, o trabalho objetivou avaliar a taxa de nitrificação líquida e a porcentagem de inibição da nitrificação biológica em solo adubado e não adubado sob cultivo de diferentes tipos de forrageiras. O experimento foi conduzido em casa de vegetação na unidade de experimentação agrícola da Universidade Federal de Uberlândia Campus Monte Carmelo. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições. As espécies de forrageiras foram: (*brachiária decumbens* L.), (*brachiária brizantha* cv. *xaraés*), (*megathyrsus maximus* L.), (*panicum maximum* cv. *massai*), (*panicum maximum* cv. *tanzânia*), (*brachiária humidicola* cv. *humidicola*), e a testemunha. Foram avaliados a matéria fresca e matéria seca da parte aérea, o pH do solo, a respiração basal do solo e a taxa de nitrificação líquida. A inibição da nitrificação do solo apresentou resultados diferentes para o solo com e sem adubação, onde a *humidicola*, *xaraés*, *tanzânia*, *mombaça* e *decumbens*, no solo com adubação, apresentaram 15,0 %, 8,0 %, 7,0%, 6,0 % e 0,6% de inibição, respectivamente. Para o solo sem adubação, apenas as forrageiras *mombaça* (7,2%) e *massai* (4,8%) inibiram a nitrificação no solo, sendo que a *humidicola* apresentou porcentagem de inibição negativa, comportamento totalmente oposto quando cultivada em solo com adubação. Tal comportamento diferente para o solo com e sem adubação pode ser atribuído aos valores de pH do solo, em que a adubação, promoveu menor valor de pH no solo o que diminuiu a atividade de bactérias nitrificantes e favoreceu a produção de braquiolactona. Pelo fato da *humidicola* não ser recomendada para plantio na região de Monte Carmelo, MG as forrageiras *mombaça*, *xaraés* e *tanzânia*, podem ser utilizadas para promover a inibição da nitrificação biológica em solo adubado.

Palavras-Chave: Nitrificação, adubação nitrogenada, forragem.

1 INTRODUÇÃO

A nitrificação é um processo crucial no ciclo biogeoquímico do nitrogênio e nutrição de plantas em sistemas solo-plantas. A nitrificação no solo é geralmente considerada como um processo de duas etapas em que a amônia é oxidada pela primeira vez a nitrito por bactérias pertencentes ao gênero *Nitrossomonas*, chamado de nitrificação. A segunda etapa pertence predominantemente ao gênero *Nitrobacter*, onde promove a conversão do nitrito em nitrato, etapa designada por nitratação (LI et al., 2017; METCALF e EDDY, 2013). Recentemente, Daims et al., (2015) demonstraram que bactérias do gênero *Nitrospira*, classificadas como ‘*Candidatus Nitrospira inopinata*’, são capazes de oxidar amônio (NH_4^+) a nitrato (NO_3^-) em um único passo.

Vários fatores ambientais influenciam a nitrificação no solo. Entre os principais estão a disponibilidade de substrato (NH_4^+), pH, umidade, aeração e temperatura. A disponibilidade de substrato é fator crucial para nitrificação, a qual tem influência direta do pH do solo (LI et al., 2018). Solos com baixo teor de matéria orgânica, ou com alta relação C:N, podem apresentar reduzida taxa de nitrificação pela baixa disponibilidade de NH_4^+ . Dentre os fatores físicos, umidade e aeração são os mais críticos, onde a nitrificação é restrita em solos com elevada umidade devido a reduzida aeração (SAHRAWAT, 2008).

O uso de plantas forrageiras, entre elas as espécies do gênero *Brachiaria*, modifica algumas características do solo devido a alterações na rizosfera, decorrentes de modificações no balanço iônico naquela fração do solo (MENGEL, K. AND KIRKBY, 2001), interferindo assim na disponibilidade de diferentes nutrientes, dentre eles o nitrogênio na forma de nitrato, no processo de nitrificação.

2 OBJETIVO

Objetivou-se com o presente trabalho avaliar a taxa de nitrificação líquida e a porcentagem de inibição da nitrificação biológica em solo adubado e não adubado sob cultivo de diferentes tipos de forrageiras.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

O nitrogênio (N) é um dos nutrientes mais absorvidos e exportados pelas plantas e é um dos principais limitantes ao crescimento e produção vegetal, em solos tropicais (GIMENES et al., 2017). No solo, o N encontra-se contido nos resíduos vegetais, na biomassa microbiana e húmus (mais de 95% do N total do solo), como NH_4^+ e NO_3^- , além de baixas concentrações como nitrito (NO_2^-) (CAMERON; DI; MOIR, 2013).

É estimado que até 70% do N aplicado às culturas é perdido devido a nitrificação e subsequente desnitrificação (SUBBARAO et al., 2017; COSKUN et al., 2017). As perdas de N nos sistemas agrícolas são uma das principais preocupações dos agricultores, devido à perda econômica, e também a ineficiência no uso de fertilizantes nitrogenados.

O processo de nitrificação pode ser avaliado no solo, a partir da variação temporal dos teores de N, após a adição de quantidades conhecidas de nitrogênio amoniacal por meio de fertilizantes minerais ou orgânicos, ou por meio de dejetos de animais. Essa forma de cálculo, utilizada na maioria das situações (FLOWERS & O'CALLAGHAN, 1983), permite estimar a nitrificação líquida ocorrida no período de tempo considerado durante a incubação.

Se a taxa de nitrificação for elevada, os teores de N na forma de nitrato (N-NO_3^-) aumentarão rapidamente, muitas vezes em época em que a demanda de N pelas culturas ainda é pequena (WHITEHEAD, 1995). Elevados teores de NO_3^- no solo podem resultar em acúmulo desta forma de N no tecido vegetal, o que pode comprometer a qualidade das plantas para o consumo humano e animal (L'HIRONDEL & L'HIRONDEL, 2002). Além disso, em condições de deficiência de O_2 , algumas bactérias utilizam o N-NO_3^- como acceptor final de elétrons na cadeia respiratória, reduzindo-o para N_2 no processo de desnitrificação (ENDOOVEN et al., 1998).

A inibição da nitrificação biológica (BNI) é a capacidade das raízes de certas plantas em suprimir a atividade de nitrificação do solo, através da produção e liberação de inibidores da nitrificação biológica (BNIs) (SUBBARAO et al., 2015).

Um vez formado NO_3^- no solo, ele se torna altamente propenso a lixiviação, e também é um substrato para microrganismos desnitrificadores do solo que convertem óxido nitroso (N_2O) a óxido nítrico (NO) e, finalmente a gás nitroso (SUBBARAO et al., 2015).

O N_2O é produzido principalmente durante processos de nitrificação e desnitrificação (SUBBARAO et al., 2015) e a função BNI é suprimir as emissões de N_2O , reduzindo a nitrificação e limitando a disponibilidade de NO_3^- para microrganismos (SUBBARAO et al., 2015; SUBBARAO et al., 2012).

Segundo Cantarella (2007), os inibidores de nitrificação caracterizam-se por reduzir a taxa desse referido composto e inibir a atividade de bactérias (Nitrosomonas), bloqueando a transformação de NH_4^+ em NO_2^- e retardando por algum tempo as perdas por lixiviação. Assim, a segunda fase da nitrificação não ocorreria, pois faltaria NO_2^- para se oxidar a NO_3^- .

As raízes, de algumas espécies de gramíneas, além de absorver água e nutrientes, também podem excretar substâncias orgânicas no solo. Essas substâncias são classificadas como exsudados, secreções e mucilagens e são capazes de afetar os fatores físicos, químicos e biológicos do solo rizosférico sendo possível uma planta liberar até $100 \text{ mg g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ de compostos orgânicos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

Solos sob cultivo de braquiária, tem sido considerado interessantes no ponto de vista do desenvolvimento de tecnologias que promovam a mitigação de perdas de N ocasionadas pelo processo de nitrificação (D'ANDREA, 2014).

Pesquisas sobre o tema têm avaliado o efeito inibitório que espécies de Brachiaria exercem sobre a nitrificação (SUBBARAO et al., 2003, 2006a, 2006b, 2007a, 2007b, 2008, 2009; GOPALAKRISHNAN et al., 2007). Tais estudos comprovam que substâncias exsudadas pelas *B. humidicola*, *B. decumbens*, *B. dictyonara*, *B. hybrid* e *B. brizantha* promovem efeito inibitório da BNI. Subbarao et al., (2009), observaram que o efeito inibitório é proveniente da substância exsudada, conhecida por diterpeno cíclico, a qual foi denominada de “braquiolactana” (Figura 1). Uma vez liberada no solo, a braquiolactona inibe a atividade da bactéria *Nitrosomonas europaea* ocasionando a paralisação das enzimas amônia mono-oxigenase e hidroxilamina oxidoreductase, que são essenciais no processo de nitrificação (SUBBARAO et al., 2007a, 2007b, 2008).

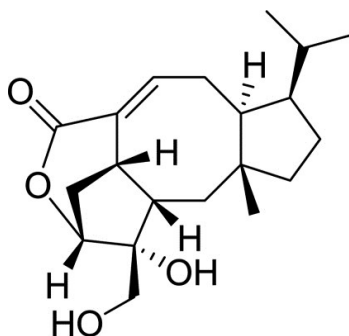


Figura 1- Representação esquemática da estrutura química da braquiolactona, exsudada de *Brachiaria humidicola*. Fonte: Subbarao (2015)

A braquiolactona é um composto pertencente à família dos terpenos. Os terpenos são substâncias produzidas pelas plantas à partir da acetil-CoA ou de intermediários glicólicos, classificadas como metabólicos secundários, isto é, são compostos orgânicos que não atuam de forma direta no crescimento e desenvolvimento vegetal e podem ser restritos quanto à espécie (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Souza et al., (2006) avaliaram que o crescimento de várias culturas (algodão, arroz, braquiária, feijão, milho e soja) foi afetado quando teores de matéria seca de *B. decumbens* foram incorporados ao solo. Em todas as culturas foi verificada uma redução no conteúdo de NO_3^- do solo, confirmando o efeito alelopático exercido pela braquiária. Gopalakrishnan et al., (2009), observaram em seus estudos que o composto exsudado pela *B. humidicola* não atinge outras populações microbianas do solo ou o desenvolvimento da planta.

Subbarao (2003) investigou o efeito que a *Brachiaria humidicola* promove no processo da nitrificação. E autores identificaram que as substâncias exsudadas de espécies de braquiárias inibem a atividade de bactérias nitrificantes (SUBBARAO et al., 2009). Dessa forma, é esperado que solos cultivados com espécies de braquiárias por um longo período de tempo apresentem maior teor de NH_4^+ ao invés de NO_3^- .

Dessa forma, a promoção da inibição da nitrificação biológica à partir do cultivo com espécies forrageiras é promissor, já que pode mitigar perdas do nitrogênio ocasionadas durante o processo de nitrificação, sendo nas formas gasosas – amônia e óxido nítrico.

Existem diversos produtos sintéticos disponíveis no mercado com o objetivo de inibir a nitrificação do NH_4^+ , como por exemplo, Nitrapirina, Dicianodiamida (DCD), 3,4-dimetilpirazol-fosfato, no entanto, por causa de seu alto custo, falta de disponibilidade,

inconveniência de aplicação e potencial de contaminação ambiental, o seu uso fica inviável. Em particular, os inibidores solúveis em água podem levar contaminação significativa de águas superficiais e subterrâneas (QIU et al., 2015).

A aplicação de DCD, por exemplo, é limitada porque são necessárias concentrações muito altas para atingir os resultados desejados. Além disso, por ser solúvel em água, o DCD lixivia das zonas de raízes das culturas, ou seja, as zonas nas quais destina-se a inibir a nitrificação (CAHALAN et al., 2015).

Partindo do pressuposto de que esse efeito no processo de nitrificação pode interferir em toda a ciclagem do N no sistema solo-planta, bem como ser uma ferramenta para melhor manejá-lo em sistemas de produção, estudos dos efeitos de exsudados de *Brachiaria* no solo na inibição do processo de nitrificação biológica são relevantes no sentido de desenvolver tecnologias que amenizem as perdas de adubação nitrogenada, e também contribuam para diminuição da contaminação de água, minimizando os riscos à saúde pública, causados pela atividade agrícola, no que refere-se a lixiviação de $N-NO_3^-$ no solo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na unidade de experimentação agrícola da Universidade Federal de Uberlândia - Campus Monte Carmelo (latitude 18°43'31" S e longitude 47°31'21" W, altitude de 908 m). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, seis tratamentos e cinco repetições com tratamento adicional. Os tratamentos consistiram em seis espécies de forrageiras: T1- Brachiarinha (*brachiaria decumbens* L.), T2- Brachiarão (*brachiaria brizantha* cv. *xaraés*), T3- Capim Mombaça (*megathyrsus maximus* L.), T4- Massai (*panicum maximum* cv. *Massai*), T5- Tanzânia (*panicum maximum* cv. *Tanzânia*), T6- Humidicola (*brachiária humidicola* cv. *humidicola*), e tratamento adicional sem cultivo de forrageira. Cada unidade experimental foi formada por um vaso de plantio de 500 mL.

O solo utilizado como substrato é do tipo LATOSSOLO VERMELHO Distrófico, textura argilosa (SANTOS et al., 2018), profundidade 0- 20 cm foi caracterizado (Tabela1).

Tabela 1. Análise química do solo usado como substrato no experimento

pH		MO	P	K	Si	Ca	Mg	SB	T	t	V
CaCl ₂	H ₂ O	g/dm ³	-----mg dm ³ -----			-----cmol _c dm ³ -----					%
5,2	6,0	25,5	59,1	256,5	1,2	3,75	1,35	5,75	9,25	5,75	62,2

Após a coleta do solo, foi feita a mistura do solo juntamente com o adubo conforme necessidade do solo e da cultura, onde foi usado 7,5g do formulado 08-28-16 em 6000g de massa de solo. Após o solo juntamente com o adubo foi homogeneizado. Foi realizado o semeio nos vasos em casa de vegetação, com dez sementes em cada vaso, onde foram realizadas irrigações diariamente, afim de proporcionar ambiente favorável para o crescimento das forrageiras. Foi realizado o desbaste em quinze dias após o semeio, deixando apenas as cinco plântulas mais vigorosas. Sessenta dias após o semeio, foi determinado a massa fresca e a massa seca da parte aérea, sendo que para a massa seca o material vegetal foi seco em estufa a temperatura de 65°C até massa constante.

O solo foi peneirado em malha de 2 mm, e as amostras foram armazenadas por um período de cinco dias sob refrigeração a 2°C até o momento das análises, o solo dos tratamentos foi avaliado quanto ao pH do solo, juntamente com a respiração basal do solo (RBS) e avaliação da taxa de nitrificação.

4.1 Respiração basal do solo - RBS

A determinação da Atividade microbiana foi realizada conforme metodologia descrita por, Dionísio et al., (2016) pela avaliação da respiração basal do solo (RBS). A massa referente a 100 g de solo úmido, previamente peneirado, em peneira de abertura de 2,00 mm, foi pesada em duplicata, e transferida para um frasco de vidro com tampa. Dentro do frasco de vidro foi colocado um tubo de ensaio contendo 10,0 mL de NaOH 0,5 mol L⁻¹ para capturar o CO₂ produzido e outro tubo de ensaio contendo 10,0 mL de água destilada para manter a umidade do ambiente do frasco, além de uma prova em branco, que corresponde a um frasco contendo apenas um tubo de ensaio com 10 mL de NaOH 0,5 mol L⁻¹ padronizado e outro contendo 10,0 mL de água destilada. Os frascos de vidro foram deixados a temperatura ambiente por três dias (36 h). Após o período de incubação, retirou-se dos frascos de vidro os tubos de ensaio contendo

NaOH, cuja solução foi transferida para erlenmeyer de 25,0 mL, adicionando 1,0 mL de BaCl₂ (10 % m V⁻¹) e duas gotas de fenolftaleína e o excesso de NaOH foi titulado com HCl 0,5 mol.L⁻¹.

4.2 Potencial hidrogeniônico

A determinação do pH em água foi realizada em duplicata, de acordo com Embrapa (2011). Foram pesadas amostras de 5 g de solo, que foram acondicionadas em frascos plásticos, onde foram adicionados 12,5 ml de água. As amostras foram agitadas e após 1 hora de repouso, foi determinado os valores de pH utilizando medidor de pH modelo Mpa 210-A, marca Tecnopon.

4.3 Determinação da taxa de nitrificação do solo

Para avaliação da taxa de nitrificação, foram adicionados 50 g de solo de cada tratamento e 8,0 mL de solução de sulfato de amônio, (NH₄)₂SO₄, 20,0 x 10³ mg L⁻¹, em frascos de 500 mL, que foram hermeticamente fechados e incubados a temperatura ambiente. Amostras de solo fresco, sem adição de solução de sulfato de amônio também foram incubadas utilizando as mesmas condições. O ensaio foi realizado em duplicata para cada tratamento. Alíquotas de 5,0 g de solo no início da incubação e com dois e quatro dias após iniciada a incubação foram transferidas para frascos de 25,0 mL e adicionado 10,0 mL de solução de KCl 1,0 mol L⁻¹ e em seguida os frascos foram agitados durante uma hora e deixados em repouso por 24 horas para extração do amônio remanescente conforme Piccollo et al., (1994). O íon amônio remanescente do processo de nitrificação, presente no sobrenadante foi determinado pelo método de análise por injeção em fluxo com detecção condutométrica-FIA/CE (FERREIRA et al., 2013; PASQUINI et al., 1987) (Figura 2). As soluções foram bombeadas usando a bomba peristáltica Minipuls 3 Gilson e tubos de Tygon®.

A solução transportadora (C2) foi constituída de NaOH a 0,1 mol L⁻¹ contendo 0,1% m V⁻¹ de EDTA. A solução receptora correspondente, cujo pH foi ajustado para o valor de 4,00 com solução de HCL a 0,1 mol L⁻¹. Após a estabilização da linha base foi inserido a extrato aquoso na alça de amostragem (187 µL).

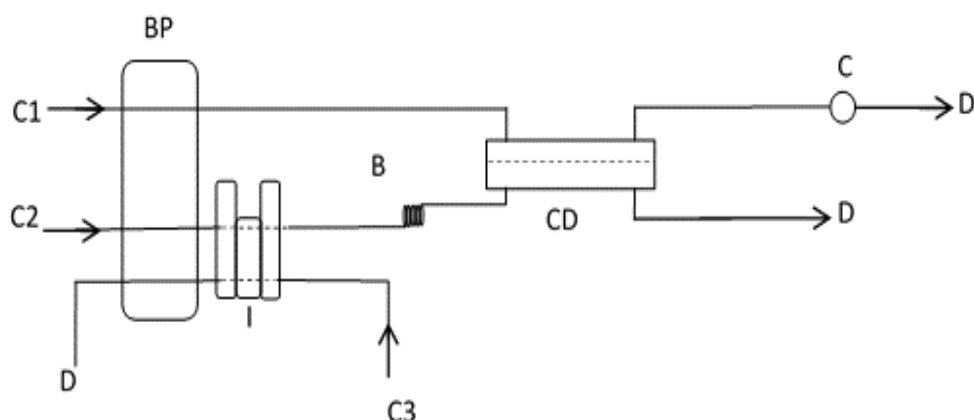
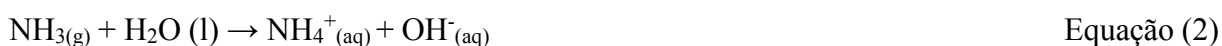


Figura 2. Sistema de análise por injeção em fluxo proposto para determinação de amônia gerada no solo. I, injetor comutador; C₁, solução receptora (água deionizada pH= 4,00); C₂, solução transportadora (NaOH) 0,1 M; C₃, solução padrão ou extrato da amostra de solo; BP, bomba peristáltica; B, reator helicoidal; CD, câmara de difusão de gás; C, condutivímetro; D, descarte. Volume de Injeção: 187mL.

Tal sistema baseia-se na reação do íon amônio com hidróxido de sódio para formação de amônia gasosa (equação 1) que permeia, seletivamente, através de membrana polimérica de politetrafluoretileno (PTFE) na câmara de difusão gasosa para solução transportadora (água a pH = 4,00) onde a amônia reage com a água (equação 2) gerando os íons que são monitorados por condutividade elétrica, sendo o valor da condutividade elétrica, proporcional à concentração do íon amônio.



A curva de calibração foi construída a partir de soluções padrões de sulfato de amônio em triplicata (2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 e 12 mg L⁻¹ de NH₄⁺).

Para o cálculo das taxas líquidas de nitrificação (kg ha⁻¹ dia⁻¹ de NH₄⁺), em cada período, utilizou-se a seguinte equação:

$$\text{Taxa líquida nitrificação} = (A - B) / t \quad \text{Equação (3)}$$

Em que A e B são, respectivamente, a diferença na quantidade de NH₄⁺ (mg g⁻¹) entre os tratamentos com e sem adição de (NH₄)₂SO₄, no primeiro, segundo e quarto dia, e t é o tempo em dias. A diferença entre A e B representa a quantidade de NH₄⁺ oxidado. A divisão dessa quantidade de NH₄⁺ oxidado, pelo período de tempo decorrido em função da massa de solo, resulta na taxa de nitrificação líquida (AITA et al., 2007).

Para o cálculo da porcentagem de inibição da nitrificação, utilizou-se a seguinte equação (MARCELINO, 2009):

$$\% \text{ Inibição} = \left(\frac{\text{TNL}_{\text{tesemunha}} - \text{TNL}_{\text{tratamento}}}{\text{TNL}_{\text{tesemunha}}} \right) \cdot 100 \% \quad \text{Equação (4)}$$

4.4 Análise dos resultados

Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias das variáveis comparadas pelo teste de *Scott Knott*, a 5% de probabilidade, utilizando-se o software Sisvar (FERREIRA, 2008). Todos os gráficos foram elaborados por meio do software livre *SciDAVis* (SciDavis, 2019).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Parâmetros de desenvolvimento das plantas

Tabela 2- Massa verde e massa seca da parte aérea, de seis espécies de forrageiras com e sem adubação.

Tratamento	Massa Verde Adubado	Massa Verde Não adubado	Massa Seca Adubado	Massa Seca Não adubado
Decumbens	23,47 aA	11,23 aB	9,14 aA	6,34 aB
Tanzânia	21,90 aA	11,29 aB	8,94 aA	6,91 aB
Humidicola	18,00 bA	8,86 bB	7,68 bA	6,38 aB
Mombaça	16,60 bA	10,40 aB	7,84 bA	6,58 aB
Massai	15,74 bA	9,39 bB	7,86 bA	6,71 aB
Xaraés	12,12 bA	8,62 bB	6,83 bA	6,35 aB
Testemunha	-	-	-	-
CV(%)	23,5	14,9	9,0	5,5

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem pelo teste *Scott Knott* a 5% de probabilidade.

As diferenças morfológicas e produtivas entre as forrageiras devem-se ao tamanho de folhas, ângulo de inserção entre a folha e o caule, rigidez das folhas, que podem afetar sua estrutura e, conseqüentemente, o índice de área foliar e o acúmulo de matéria seca (COOPER, 1983).

A massa vegetal verde e seca apresentou diferenças em relação ao solo adubado e não adubado, devido a maior disponibilidade de nutrientes presentes no solo adubado. A massa seca das plantas em solo adubado apresentou o mesmo comportamento, onde as forrageiras decumbéns e tanzânia, apresentaram maiores quantidade de material seco da parte aérea, mas em solo sem adubação já não foi observado diferenças significativas.

5.2 pH e atividade microbiana

Tabela 3- pH do solo em água sob cultivo de seis espécies de forrageiras com e sem adubação

Tratamento	pH Adubado	pH Não Adubado
Decumbens	5,80 aB	6,67 aA
Humidicola	5,83 aB	6,71 aA
Massai	5,92 aB	6,82 aA
Mombaça	5,77 aB	6,93 aA
Tanzânia	5,90 aB	6,76 aA
Xaraés	5,75 aB	6,60 aA
Testemunha	-	6,52bB
CV (%)		3,23

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem pelo teste *Scott Knott* a 5% de probabilidade.

Não foram observadas diferenças significativas para os valores da acidez ativa do solo (pH em água) em relação as diferentes forrageiras. Em relação a adubação ocorreram diferenças entre os valores da acidez ativa do solo. O pH ótimo para bactérias nitrificantes está entre 7,5 e 8,5, sendo que valores menores que 6,00 o processo de nitrificação tende a cessar (EPA, 2003), como foi verificado no solo que recebeu adubação, que apresentou um valor médio de pH de 5,70. Segundo Metcalf e Eddy (2003), valores próximos a 5,80 e 6,00 as mesmas podem ser reduzidas de 10 a 20% quando o valor do pH do solo for igual a 7,00. O que não ocorreu no caso do solo não adubado, que apresentou uma média de 6,74, e no tratamento sem cultivo de forrageiras e sem adubação (testemunha). O que mostra que a adubação provoca um aumento da concentração de íons H^+ na solução do solo, provavelmente em virtude da hidrólise provocada pelos íons presente no fertilizante aplicado.

Tabela 4- Respiração basal do solo com e sem adubação entre seis espécies de forrageiras

Tratamento	(mg C-CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	
	Adubado	Não Adubado
Decumbéns	8,65 aA	8,50 aB
Humidícola	8,70 aA	8,60 aA
Massai	8,70 aA	7,90 cB
Mombaça	8,70 aA	8,40 bB
Tanzânia	8,40 bA	8,35 bA
Xaraés	8,50 bA	8,00 cB
Testemunha	-	8,50 aA
CV (%)	0,57	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem pelo teste de *Scott Knott* a 5% de probabilidade. RBS: respiração basal do solo.

O tipo de cultura pode afetar a atividade da microbiota nitrificante, por exemplo, nas pastagens, onde pode haver maior concentração de amônio que nitrato, sendo que as causas ainda não estão bem definidas, havendo evidências de que as raízes excretam exsudatos que reduzem a taxa de nitrificação (CASSINI, 2005).

Para a situação de manejo com adubação, verificou-se que decumbens, humidicola, massai e mombaça, apresentaram maior atividade microbiana no solo em relação aos tratamentos tanzânia e xaraés. Na situação de manejo sem adubação a humidícola e tanzânia apresentaram atividade microbiana mais elevada em relação as demais. De acordo com Silva et al., (2013) os resultados de respiração do solo são bastante variáveis e dependentes, principalmente, da disponibilidade do substrato, umidade e temperatura, sendo que esses fatores podem ter sofrido alterações em função do tipo de forrageira. Os resultados para atividade microbiana do solo respondeu de forma diferente em relação a situação de manejo e em relação a alguns tipos de forrageiras avaliadas, dentre elas a humidicola, que se destacou apresentando uma RBS de 8,70 mg C-CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ com adubação e 8,60 mg C-CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ sem adubação. Gerando assim, condições favoráveis para maior atividade da microbiota no solo da rizosfera, por meio da liberação de exsudatos (PARKIN et al., 1996).

5.3 Taxa de nitrificação

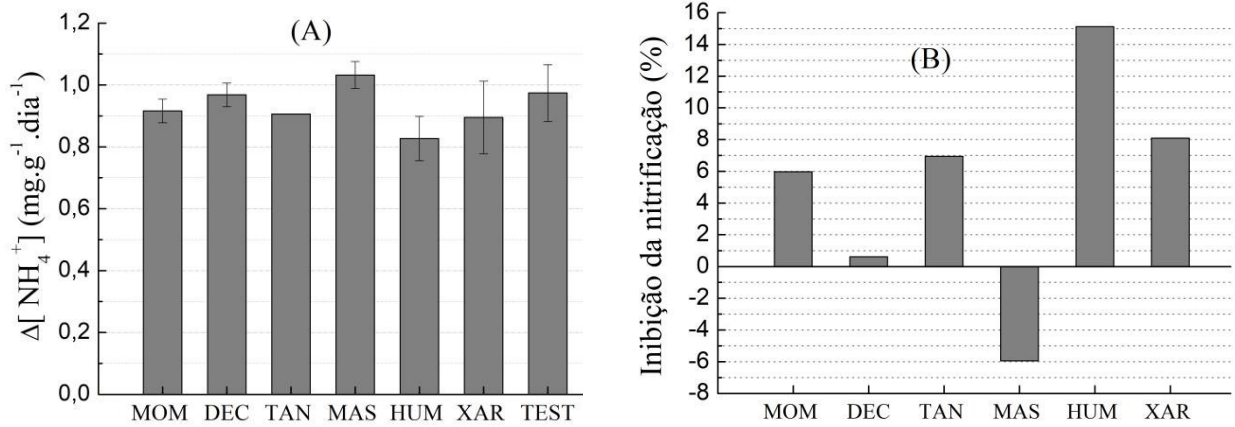


Figura 3: Taxa de consumo de NH_4^+ com adubação (A) e porcentagem (%) da inibição da nitrificação (B)

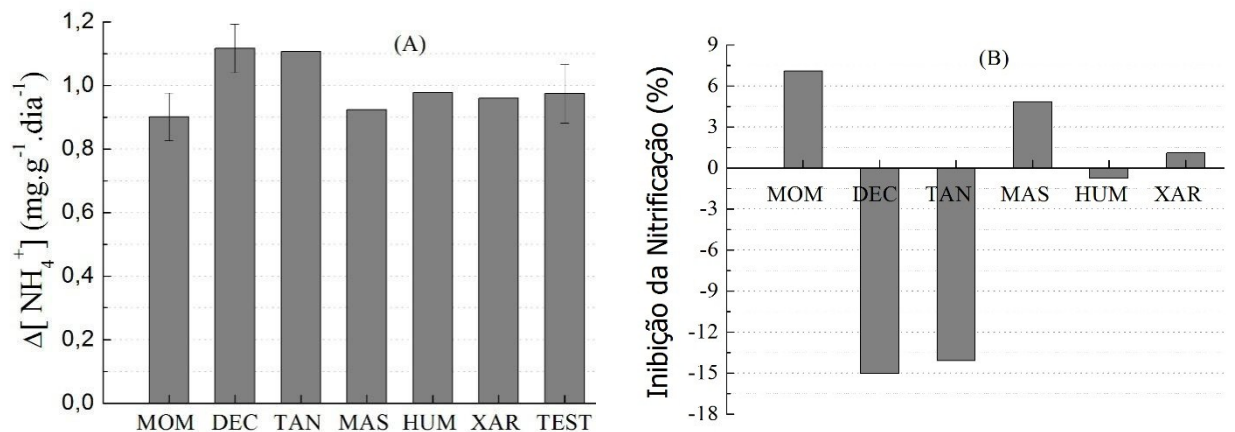


Figura 4: Taxa de consumo de NH_4^+ sem adubação (A) e porcentagem (%) da inibição da nitrificação (B)

O termo, potencial de nitrificação, tem sido aplicado para medidas de taxas de nitrificação obtidas em condições de laboratório, sabendo que o processamento das amostras para incubação, incluindo peneiramento, secagem, armazenagem, etc., perturbam as amostras. Essas perturbações, combinadas com as condições de incubação (temperatura, umidade, etc.) são diferentes daquelas encontradas no campo, assim sendo, os resultados de taxas de nitrificação também diferentes (HART et al., 1994) em relação aos encontrados em campo. Nesse sentido, o termo potencial de nitrificação não necessariamente quantifica a taxa máxima de nitrificação encontrada no campo, mas sim, aquela definida pelas condições de incubação.

Em relação a concentração de NH_4^+ para o solo adubado, observa-se que a forrageira massai apresentou uma maior variação na concentração do amônio, consumindo $1,0 \text{ mg g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ ou seja, uma taxa de nitrificação maior que a testemunha e conseqüentemente a sua taxa de inibição de nitrificação foi negativa, contribuindo para o aumento na nitrificação. Diferente da humidicola que se destacou, apresentando uma inibição da nitrificação de 15%, sendo que em relação a taxa de nitrificação a humidicola não se diferenciou do brachiarão (xaraés), tanzânia e da testemunha, apresentando uma menor variação na concentração de íon amônio, devido a geração da braquiolactona exsudada das raízes dessas forrageiras.

Em solo sem adubação, as forrageiras mombaça com 7,2% de inibição da nitrificação e massai com 5,0%, se destacaram em relação as demais, com isso obtiveram uma menor variação na concentração do amônio, porém não se diferenciaram em relação as demais.

A forrageira humidicola em solo sem adubação, apresentou porcentagem de inibição negativa, comportamento totalmente oposto quando cultivada em solo com adubação, sendo que para essa forrageira a adubação pode ter estimulado a geração da braquiolactona. Esse comportamento também foi observado para as forrageiras decumbens e tanzânia. Os resultados de taxa de nitrificação são mais evidentes na porcentagem de inibição, verifica-se que para a forrageira massai, a ausência de adubação pode ter promovido a produção de braquiolactona, pois o solo dessa forrageira nessa condição de adubação apresentou uma porcentagem de inibição de 4,8 %.

Considerando que o solo não adubado, apresentou valores de pH mais elevados e que a maioria das forrageiras apresentaram menores porcentagens de inibição da taxa de nitrificação nessa situação de adubação, ou seja pH mais elevado, verifica-se que o valor do pH do solo pode influenciar o processo de nitrificação (DE QUEIROZ E BOEIRA; 2007; ZOPPAS et al., 2016), o que favoreceu a atividade de bactérias nitrificantes e a diminuição da produção de braquiolactona.

6 CONCLUSÕES

As forrageiras cultivadas em solo adubado apresentaram maiores valores massa vegetal da parte aérea desenvolvimento vegetal da parte área, com destaque para as forrageiras decumbens e tanzânia. A forrageira humidicola, em solo adubado, promoveu uma maior atividade microbiana e conseqüentemente maior quantidade de exsudados o que gerou uma maior inibição da nitrificação biológica. O tipo de forrageira não influenciou na acidez ativa do

solo, mas a situação de adubação provocou uma diminuição nos valores do pH do solo, o que favoreceu a inibição da nitrificação, onde as forrageiras humidicola, mombaça e xaraés se destacaram em relação as demais. Assim como a humidicola não é recomendada para plantio na região, pois não é adaptada ao clima e solo as forrageiras mombaça e xaraés podem ser utilizadas como promotoras da inibição da taxa de nitrificação no solo.

7 REFERÊNCIAS

AITA, CELSO et al., Nitrificação do nitrogênio amoniacal de dejetos líquidos de suíno sem solo sob sistema de plantio direto. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 1, p.95-102, jan. 2007.

CAHALAN, E et al., . The effect of precipitation and application rate on dicyandiamide persistence and efficiency in two Irish grassland soils. **Soil Use and Management** 31: 367–374, 2015

CAMERON, K.C.; DI, H.J.; MOIR, J.L. Nitrogen losses from the soil/plant system: a review. **Annals of Applied Biology**, Hoboken, v. 162, n. 2, p. 145–173, 2013.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVARES, V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375-470.

CASSINI, Servio Tulio. **Ciclo do Nitrogênio**. 2005. Resumo acadêmico (PROGRAMA DE POS GRADUAÇÃO ENGENHARIA AMBIENTAL – PPGEA) – UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO – UFES, Espírito Santo, 2005. Disponível em www.inf.ufes.br/~neyval/Gestao_ambiental/Tecnologias_Ambientais2005/Ecologia/CicloNP_S.doc+&cd=12&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br. Acesso em: 28 fev. 2019.

COOPER, J.P. Physiological and morphological advances for forage improvement In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 14., Lexington, 1981. **Proceedings**. Boulder: Westview Press, 1983.

COSKUN D; BRITTO D.T; AHI W; KRONZUCHER H.J Nitrogen transformations in modern agriculture and the role of biological nitrification inhibition. **Nature Plants** 3:17074, 2017.

DAIMS et, al., **Complete nitrification by Nitrospira bacteria**. Nature 528, (2015) 504–509

D'ANDREA, Maria Stefania Cruanches. **Técnica da diluição do isótopo ^{15}N para determinação da amonificação e nitrificação brutas de n em solos cultivados com cana-de-açúcar e braquiaria**. 2014. Tese (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Sao Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba.

DA CRUZ, Carlos José Domingos; PARRON, Lucilia Maria; ROCHA, Ana Lídia Alves. Disponibilidade e mobilidade de íons em solução de solo sob cultura de cafeeiro. 2008.

DE QUEIROZ, J. F.; BOEIRA, R. C. Boas práticas de manejo (BPMs) para reduzir o acúmulo de amônia nos viveiros de aquicultura. **Embrapa Meio Ambiente. Comunicado Técnico**, 2007.

DIONÍSIO, A. P.; WURLITZER, N. J.; GOES, T. S.; BORGES, M. F.; GARRUTI, D. S.; ARAUJO, I. M. S. Estabilidade de uma bebida funcional de frutas tropicais e yacon (*Smallanthus sonchifolius*) durante o armazenamento sob refrigeração. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, v. 66, p. 148, 2016.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Manual de métodos de análises de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011. 230p.

ENDOOVEN, L.; BONHOMME, E.; MERCKX, R.; VLASSAK, K. Injection of pig slurry and its effects on the dynamics of nitrogen and carbon in a loamy soil under laboratory conditions. **Biology and Fertility of Soils**, v.27, p.5-8, 1998.

FERREIRA, Daniel Furtado. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. In: **Revista symposium**. 2008. p. 36-41.

FLOWERS, T.H.; O'CALLAGHAM, J.R. Nitrification in soils incubated with pig slurry or ammonium sulphate. **Soil Biology and Biochemistry**, v.15, p.337-342, 1983

GIMENES, F.M.A.; BARBOSA, H.Z.; GERDES, L.; GIACOMINI, A.A.; BATISTA, K.; MATTOS, W.T.; PREMAZZI, L.M.; MIGUEL, A.N.V. The utilization of tropical legumes to provide nitrogen to pastures: A review. **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v. 12, n. 2, p. 85-92, 2017.

GOPALAKRISHNAN, S.; SUBBARAO, G.V.; NAKAHARA, K.; YOSHIHASHI, T.; ITO, O.; MAEDA, I.; ONO, H.; YOSHIDA, M. Nitrification inhibitors from the root tissues of *Brachiaria humidicola*, a tropical grass. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 55, p.1385-1388, 2007.

GOPALAKRISHNAN, S.; WATANABE, T.; PEARSE, S.J.; ITO, O.; HOSSAIN, Z.A.K.M.; SUBBARAO, G.V. Biological nitrification inhibition by *Brachiaria humidicola* roots varies with soil type and inhibits nitrifying bacteria, but not other major soil microorganisms. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 55, p. 725–733, 2009.

HART, S.C.; STARK, J.M.; DAVIDSON, E.A.; FIRESTONE, M.K. Nitrogen mineralization, immobilization and nitrification. In: Weaver, R.W. (ed.) **Methods of soil analysis. Part 2: Microbiological and Biochemical Properties**. Soil Science Society of America, Inc. 1994. pp. 985-1017.

HELYAR, Keith. Manejo da acidez do solo a curto e a longo prazos. **Informações Agronômicas, Encarte Técnico**, n. 104, 2003.

L'HIRONDEL, J.; L'HIRONDEL, J.L. **Nitrate and man: toxic, harmless or beneficial**. Wallingford: CAB International, 2002. 168p.

LI, Yaying et al. Nitrification and nitrifiers in acidic soils. **Soil Biology And Biochemistry**, China, p.290-301, 24 out. 2017.

LI, Y.; Chapman, S.J.; Nicol, G.W.; Yao, H. Nitrification and nitrifiers in acidic soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 116, p. 290-301, 2018.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. **Principles of plant nutrition**. 5.ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. 849p.

MARCELINO, R. **Inibidor de nitrificação em fertilizantes nitrogenados e rendimento de milho**. 2009. 81 f. 2009. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Gestão de Recursos

Agroambientais) -Instituto Agronômico de Campinas, Campinas.

METCALF E EDDY, Inc. Wastewater Engineering: *Treatment And Resource Recovery*. McGraw-Hill Education; 5 Edition, P.2048, 2013.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006. MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, 2002. 626 p.

PARKIN, T.B.; DORAN, J.W. & FRANCO-VIZCAINO, E. Field and laboratory tests of soil respiration. In: DORAN, J.W. & JONES, A., eds. Method for assessing soil quality. Madison, **Soil Science Society of America**, 1996. p.231- 245.

PICCOLO, M.C.; Neill, C. & Cerri, C.C. Net nitrogen mineralization and net nitrification along a tropical forest-to-pasture chronosequence. **Plant Soil**, 162:61-70, 1994.

QIU H, SUN D, FUNATILAKE SR, SHE J, MLSNA TE. 2015. **Analysis of trace dicyandiamide in stream water using solid phase extraction and liquid chromatography UV spectrometry**. *Journal of Environmental Sciences* 35: 38–42.

SANTOS, H. G. dos et al. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 5.Ed., rev. E ampl. Brasília: Embrapa, 2018. 353 p. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/181677/1/SiBCS-2018-ISBN-9788570358172.epub>>. Acesso em: 10 fev. 2019.

SAHRAWAT, K.L., Rego, T.J., Wani, S.P. and Pardhasaradhi, G. (2008) Stretching soil sampling to watershed: evaluation of soil-test parameters in a semi-arid tropical watershed. **Communications in Soil Science and Plant Analysis** 39, 2950-2960.

ScIDAVIS. Aplicativo para análise de dados de estatística. 06 abril 2017. Disponível em: <<http://scidavis.sourceforge.net/>>. Acesso em: março de 2019.

SILVA, C.A.; STRAPAÇÃO, S.; YAMANAKA, E.H.U.; BALLAO, C.; MONTEIRO, C.S. (2013) Potabilidade da água de poços rasos em uma comunidade tradicional, Curitiba - PR. **Revista Biociências**, v. 19, n. 2, p. 88-92.

SOUZA, L.S.; VELINI, E.D.; MARTINS, D.; ROSOLEM, C.A. Efeito alelopático de capim-braquiária (*Brachiaria Decumbéns*) sobre o crescimento inicial de sete espécies de plantas cultivadas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, p. 657-668, 2006.

SUBBARAO, G.V et al., Suppression of nitrification and nitrous oxide emission by the tropical grass *Brachiaria humidicola*. **Plant and Soil**, The Hague, v. 255, p. 413-419, 2003.

SUBBARAO, G.V et al., A bioluminescence assay to detect nitrification inhibitors released from plant roots: a case study with *Brachiaria humidicola*. **Plant and Soil**, The Hague, v. 288, p. 101-112, 2006a.

SUBBARAO, G.V et al., NH_4^+ triggers the synthesis and release of biological nitrification inhibition compounds in *Brachiaria humidicola* roots. **Plant and Soil**, The Hague, v. 290, p. 245–257, 2007b. 44

SUBBARAO, G.V et, al., Biological nitrification inhibition (BNI) - is it a widespread phenomenon? **Plant and Soil**, The Hague, v. 294, p. 5–18, 2007a.

SUBBARAO, G.V et, al., Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems-Challenges and opportunities. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 25, p. 303–335, 2006b.

SUBBARAO, G.V et, al., Free fatty acids from the pasture grass *Brachiaria humidicola* and one of their methyl esters as inhibitors of nitrification. **Plant and Soil**, The Hague, v. 313, p. 89–99, 2008.

SUBBARAO, G.V et, al., Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 106, p. 17302-17307, 2009.

SUBBARAO, G.V et, al., **Biological nitrification inhibition**-a Novel strategy to regulate nitrification in agricultural systems, *Adv. Agron.* 114 (2012) 249–302.

SUBBARAO, G.V et, al., Suppression of soil nitrification by plants, **Plant Sci.** 233 (2015) 155–164.

SUBBARAO, G.V et, al., Genetic mitigation strategies to tackle agricultural GHG emissions: the case for biological nitrification inhibition technology. **Plant Sci** 262 (2017) 165–168.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. (Ed.). **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

WHITEHEAD, D.C. **Grassland nitrogen**. Wallingford: CABInternational, 1995. 352p.

ZOPPAS, F.M; BERNARDES, A.M; MENEGUZZI, A. Parâmetros operacionais na remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea. **Engenharia sanitária e ambiental: órgão oficial de informação técnica da ABES. Vol. 21, n. 1 (jan./mar. 2016), p. 29-42, 2016.**

PICCOLO, M. C.; NEILL, C.; CERRI, C. C. Net nitrogen mineralization and net nitrification along a tropical forest-to-pasture chronosequence. **Plant and Soil**, v.162, p.61-70,1994.