Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

Bactérias amonificantes e nitrificantes e teores de amônio e nitrato afetados por plantas de cobertura e fertilizantes nitrogenados

Ammonifying and nitrifying bacterias and ammonium and nitrate concentration as affected by cover crops and nitrogen fertilization

Edemar Moro[1], Carlos Alexandre Costa Crusciol[2], Adriano Stephan Nascente[3*], Heitor Cantarella[4], Marcio Rodrigues Lambais[5]

[1]Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Faculdade de Ciências Agrárias. Rodovia Raposo Tavares, Km 572, CEP 19067-175, Presidente Prudente, São Paulo.
[2]Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA), Departamento de Produção Vegetal, Botucatu, São Paulo.
[3]Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, Goiás. adriano.nascente@embrapa.br
[4]Instituto Agronômico de Campinas - IAC, Campinas, São Paulo.
5 Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Departamento de Ciência do Solo. Piracicaba, São Paulo.

Recebido em: 05/05/2014 Aceito em:08/10/2015

Resumo. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito das plantas de cobertura e da fonte de N nas bactérias nitrificantes e amonificantes do solo, bem como nos teores de nitrato e amônio. O experimento foi conduzido em um latossolo vermelho distrófico sobre sistema plantio direto (SPD) por seis anos. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, no esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições. As parcelas foram constituídas por seis espécies de plantas de cobertura do solo (*Brachiaria brizantha, Brachiaria decumbens, Brachiaria humidicola, Brachiaria ruziziensis, Pennisetum americanum* e *Crotalaria spectabilis*) e as subparcelas pelo controle e três fontes de N (1- controle, sem aplicação de N, 2- nitrato de cálcio, 3- sulfato de amônio e 4- sulfato de amônio + dicianodiamida (DCD)) aplicadas imediatamente após a emergência do arroz na dose de 40 kg ha^{-1} de N. Foram avaliadas a atividade das bactérias e os teores de nitrato e amônio no solo aos 15 DAE. As plantas de cobertura milheto (*Pennisetum americanum*), crotalaria (*Crotalaria spectabilis*); *Brachiaria brizantha*, *B. decumbens*; e *B. humidicola* proporcionaram os maiores teores de amônio no solo; O uso do inibidor de nitrificação (dicianodiamida-DCD) inibiu parte das bactérias nitrificantes e proporcionou os maiores teores de amônio no solo. A atividade das bactérias amonificantes e nitrificantes foi maior nas parcelas cultivadas com braquiárias. Plantas de cobertura aliada ao uso de DCD pode ser uma estratégia para aumentar os teores de amônio do solo cultivado sobre SPD.
Palavras-chave: atividade biológica, mineralização, N , sistema plantio direto

Abstract. The aim was to evaluate the effect of cover crops and N sources on ammonifying and nitrifying bacteria activities, as well as the levels of nitrate and ammonium in the soil. The experiment was conducted in an oxisol on no-tillage system (NTS) for six years. The experimental design was randomized blocks, arranged in a split plot scheme with four replications. The plots consisted of six species of cover crops (*Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola*, *Brachiaria ruziziensis*, *Pennisetum americanum* and *Crotalaria spectabilis*) and the split plots by control treatment and three nitrogen sources (1 – control, no nitrogen fertilization, 2 - calcium nitrate, 3 - ammonium sulfate and 4 – ammonium sulfate + dicyandiamide (DCD) fertilized immediately after rice emergence in the dose of 40 kg ha^{-1} of N. It was evaluated the activity of bacteria and the nitrate and ammonium in the soil at 15 DAE. The cover crops millet (*Pennisetum americanum*), crotalaria (*Crotalaria spectabilis*), *Brachiaria brizantha*, *B. decumbens* and *B. humidicula* provided the highest level of ammonium in the soil; The use of nitrification inhibitor (dicyandiamide-DCD) inhibited part of the nitrifying bacteria and provided the highest

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

levels of ammonium in the soil. The activity of nitrifying and ammonifying bacteria was higher in plots cultivated with *Brachiarias*. Cover crops with the use of DCD could be used as one strategy to increase the level of ammonium in the soil under NTS.
Keywords: biological activity, mineralization, nitrogen, no-tillage system

Introdução

O uso de plantas de cobertura favorece o acúmulo de resíduos orgânicos na superfície do solo no sistema plantio direto (SPD) promovendo aumento da atividade biológica e como consequência transformações do material orgânico (Subbarao et al., 2009a). Em relação ao N, dentre as principais transformações de origem biológica tem-se a mineralização (amonificação e nitrificação) (Fageria, 2014).

A mineralização é o processo de transformação do N orgânico em formas inorgânicas. Durante o processo o N passa pelas seguintes etapas: N-orgânico, N-amídico, N-amoniacal e N-nitrico (N-nitrito e N-nitrato). O amônio e o nitrato produzidos são consequência de dois processos microbiológicos distintos, a amonificação e a nitrificação (Subbarao et al., 2007a).

A amonificação é o processo de desaminação de compostos orgânicos nitrogenados complexos que podem ser proteínas, aminoácidos e ácidos nucleicos. Quando os microorganismos decompositores (bactérias saprófitas e fungos) atuam sobre a matéria orgânica liberam diversos resíduos para o meio ambiente, entre eles a amônia (NH_3). Combinando-se com a água do solo, a amônia forma hidróxido de amônio que, ionizando-se, produz NH_4^+ (íon amônio) e OH^- (hidroxila) (Fageria et al., 2011).

O processo de nitrificação envolve a conversão de NH_4^+ do solo em NO_3^-, por reações de oxidação (Crusciol et al., 2011). Esta reação é realizada pela atividade de dois grupos específicos de bactérias autotróficas e ocorre em duas etapas. A primeira, denominada de nitritação, envolve a conversão de NH_4^+ a NO_2^- por Nitrosomonas e Nitrosospira (Fageria et al., 2011). Esta etapa da nitrificação pode ser subdividida em outras duas, de acordo com a atuação das enzimas amônia mono-oxigenase (AMO) e hidroxilamina oxidoredutase (HAO), presentes nas bactérias Nitrosomonas (Subbarao et al., 2007a; 2007b). Estas enzimas catalisam as reações essenciais do processo de oxidação da amônia (Subbarao et al., 2008). A AMO atua na conversão da amônia em hidroxalamina e a HAO atua na conversão da hidroxalamina à nitrito.

A segunda etapa do processo de nitrificação é chamada de nitratação, ou seja, a oxidação de NO_2^- à NO_3^-, que é realizada em uma única fase por ação da enzima nitrito oxidoredutase presente nas bactérias do gênero Nitrobacter. Esta conversão ocorre rapidamente e, portanto, o nitrito raramente se acumula no solo (Fageria, 2014).

Nos sistemas agrícolas existem várias causas que aceleram o processo de nitrificação (Poudel et al., 2002). Algumas dessas causas são inevitáveis, como a correção do solo e melhorias na estrutura física, o que resulta em maior aeração. Porém existem outras que poderiam ser contornadas, como a falta de rotação de culturas e o uso excessivo de fertilizantes nitrogenados (Subbarao, 2009a).

Assim, a principal forma de N encontrada em solos aerados é o NO_3^- (D'Andrea et al., 2004). Além disso, quando o solo é cultivado as raízes das plantas podem arejar o solo (na região da rizosfera) o que favorece ainda mais o processo de nitrificação (Rubinigg et al, 2002). Entretanto, poucos são os trabalhos avaliando a dinâmica das bactérias nitrificantes e amonificantes no ambiente plantio direto.

A maioria das plantas absorve indistintamente nitrato e amônio. Entretanto, a predominância de nitrato pode causar perdas de N. Esse elemento é mais facilmente perdido por lixiviação, acompanhando o movimento descendente da água no perfil do solo (Crusciol et al., 2011; Fageria et al., 2011). Maiores teores de amônio no solo podem ser importantes para várias culturas como o arroz, que se desenvolve melhor em solos com teores equivalentes de amônio e nitrato (Holzschuh et al., 2009). Adicionalmente, a absorção de N como amônio é mais vantajosa para a planta, uma vez que a assimilação do NO_3^- demanda mais energia pela planta, em comparação à assimilação do NH_4^+ (Bredemeier & Mundstock, 2000). Entretanto, dentro da planta tem que haver equilíbrio entre as formas amônio e nitrato. A absorção do NH_4^+ demanda

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

menos energia, porém, se não for imediatamente metabolizado, torna-se tóxico para a planta (Fageria, 2014). Dessa forma, partiu-se da hipótese de que a espécie utilizada como planta de cobertura bem como a fonte inorgânica de N podem atuar na população das bactérias nitrificantes e amonificantes do solo e, consequentemente, alterar o balanço amônio/nitrato no solo. Assim, por meio deste trabalho objetivou-se avaliar o efeito das plantas de cobertura e da fonte de N proveniente de fertilizantes inorgânicos na população das bactérias nitrificantes e amonificantes do solo, bem como nos teores de nitrato e amônio.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no ano agrícola 2009/2010 na Fazenda Experimental Lageado da Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP, em Botucatu (SP), em uma área que recebeu o cultivo da cultura do arroz. A área experimental está localizada a 22º 51'S de latitude, 48º 26'W de longitude e 740 m de altitude. Segundo a classificação climática de Köeppen, o clima predominante na região é do tipo Cwa, tropical de altitude, com inverno seco e verão quente e chuvoso.

O solo foi classificado como Latossolo Vermelho distroférrico, sendo manejado sob SPD há seis anos. A sequência de culturas neste período foi: soja/aveia preta, milho/*Brachiaria brizantha*, milho/*Brachiaria brizantha*, soja/aveia branca, feijão/aveia branca, soja/pousio, milho verão/instalação do experimento.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, no esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições. As parcelas foram constituídas por seis espécies de plantas de cobertura do solo (*Brachiaria brizantha, Brachiaria decumbens, Brachiaria humidicola, Brachiaria ruziziensis, Pennisetum americanum* e *Crotalaria spectabilis*) e as subparcelas pelo controle e três fontes nitrogenadas (1- controle, sem aplicação de N, 2- nitrato de cálcio, 3- sulfato de amônio e 4- Sulfato de amônio + dicianodiamida (DCD)) aplicadas imediatamente após a emergência do arroz na dose de 40 kg ha^{-1} de N.

Antes da implantação do experimento foi realizada a caracterização química do solo até a profundidade 0-20 cm, utilizando-se metodologia proposta por Raji et al. (2001). Os valores obtidos foram: matéria orgânica, 14 g dm^{-3}; pH (1:2,5 solo/suspensão de $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}), 5,8; P (resina), 35 mg dm^{-3}; S 40 mg dm^{-3}; K, Ca, e Mg trocáveis de 3,6, 43 e 34 $mmol_c$ dm^{-3}, respectivamente, acidez total em pH 7,0 (H + Al) de 6,4 $mmol_c$ dm^{-3}, capacidade de troca de cátions total (CTC) de 110 $mmol_c$ dm^{-3}, saturação por bases de 73 %. Quanto aos micronutrientes os valores para Fe, Cu, Mn, Zn e B foram 6,0; 7,5; 105; 2,3 e 0,22 mg dm^{-3}, respectivamente. Os teores de NH_4^+ e NO_3^- foram, respectivamente, 6,05 e 15,7 mg dm^{-3}.

A dessecação da vegetação espontânea foi realizada com glifosato (2.000 g ha^{-1} do i.a.) e a semeadura das plantas de cobertura com a semeadora de plantio direto modelo Personalle Drill 13 Semeato. A densidade de semeadura e o espaçamento entre linhas foram de acordo com a recomendação indicada para cada espécie, sendo semeadas no dia 01/04/2009. Em outubro de 2009, aos 150 DAE as plantas de cobertura foram dessecadas com glyphosate na dose de 2.000 g do i.a. ha^{-1}. Antes do manejo foi determinada a produção de matéria seca das plantas de cobertura. As produções foram as seguintes: *Pennisetum americanum* 10,7 t ha^{-1}, *Crotalaria juncea* 8,7 t ha^{-1}, *Brachiaria brizantha* 12,5 t ha^{-1}, *B. decumbens* 14,6 t ha^{-1}, *B. humidicola* 12,5 t ha^{-1} e *B. ruziziensis* 7,0 t ha^{-1}.

A semeadura do arroz foi realizada 30 dias após manejo químico das plantas de cobertura e a adubação nitrogenada imediatamente após a emergência da cultura. No solo foram determinados o teor de N (amoniacal e nítrico) e o pH. As amostras foram coletadas na profundidade 0-5 cm. As determinações foram realizadas aos 14 DAE do arroz de acordo com metodologia proposta por Silva (2009). Para a determinação das bactérias amonificantes e nitrificantes foram coletadas amostras compostas de cinco sub-amostras na camada de 0-5 cm, sendo que as coletas foram realizadas no dia do manejo das plantas de cobertura aos 14 DAE do arroz. As amostras foram acondicionadas em sacos de plástico e transportadas em caixas de isopor com gelo até o laboratório, onde foram armazenadas a -10°C. As bactérias amonificadoras e nitrificantes foram determinadas pelo método da inoculação de suspensões diluídas de solo. O solo foi diluído em meio de cultura líquido (Sarathchandra, 1978). A estimativa do número de

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

células viáveis foi feita pela técnica número mais provável (NMP), proposta por Cochran (1950). Os dados foram submetidos a analise de variância e as médias comparadas pelo teste LSD ($p \leq 0,05$).

Resultados e Discussão

O teor de amônio no solo foi influenciado pelas plantas de cobertura e pela fonte de N (Tabela 1). A fonte amoniacal com inibidor de nitrificação proporcionou os maiores valores de NH_4^+ no solo em todas as plantas de cobertura. O valor médio da fonte amoniacal com inibidor foi de 20,2 mg kg^{-1}, diferindo estatisticamente das demais que tiveram valores médios de 11,9, 12,9 e 13,6 mg kg^{-1} para o controle, fonte nítrica e amoniacal sem inibidor, respectivamente. De acordo com Cantarella & Marcelino (2008) a maioria dos fertilizantes nitrogenados, incluindo os amoniacais são solúveis em água, liberam rapidamente NH_4^+. Essa característica é vantajosa, pois o amônio é menos sujeito a perdas por lixiviação como o nitrato (D'Andrea et al., 2004). Além disso, a assimilação do N-NH_4^+ demanda menos energia pela planta, em comparação à assimilação do N-NO_3^- (Bredemeier & Mundstock, 2000). Plantas como o arroz se desenvolvem melhor em ambientes com maiores teores de amônio no início de seu desenvolvimento (Holzschuh et al., 2009; Fageria et al., 2011).

Tabela 1. Teores de amônio (mg kg^{-1}), nitrato (mg kg^{-1}) e pH do solo na profundidade 0-5 em função da fonte de N e das plantas de cobertura. Botucatu-SP, 2010.

Manejo do N	Planta de cobertura[1]						Média
	MILH	CROT	BRIZ	DECU	HUMI	RUZI	
Fonte/época				Amônio			
Controle	13,2bA	10,3bC	13,7bA	10,9cBC	12,7cAB	10,5cC	11,9c
NO-40	10,3cD	10,8bCD	16,5aA	12,7bcBC	14,2bcB	13,0bB	12,9bc
NH-40	13,3bABC	12,1bC	13,9bABC	14,6bAB	14,8bA	12,8bBC	13,6b
SAMI-40	23,6aA	23,5aA	14,7abD	20,2aB	17,5aC	21,7aAB	20,2a
Média	15,1A	14,2B	14,7A	14,6A	14,8A	14,5AB	-
				Nitrato			
Controle	8,4cCD	5,9dE	10,4cBC	8,2dD	13,6cA	10,7dB	9,5d
NO-40	13,7bC	9,5cD	21,3bA	13,0cC	12,0cC	17,5bB	14,5c
NH-40	24,1aA	22,4aAB	23,8aA	20,4bB	22,2aAB	23,5aA	22,7a
SAMI-40	24,2aB	16,6bC	24,9aB	28,3aA	16,0bCD	14,0cD	20,7b
Média	17,6B	13,6D	20,1A	17,5B	16,0C	16,4C	-
				pH			
Controle	5,6aAB	5,5aB	5,7aAB	5,9aA	5,7aAB	5,6aAB	5,7a
NO-40	5,5aA	5,5aA	5,7aA	5,7aA	5,7aA	5,6aA	5,6a
NH-40	5,6aA	4,9bC	5,2bBC	5,1bBC	5,5aAB	5,2bBC	5,3b
SAMI-40	5,5aA	5,7aA	5,7aA	5,6aA	5,6aA	5,5abA	5,6a
Média	5,6A	5,4A	5,6A	5,6A	5,6A	5,5A	-

[1]MILH-*Pennisetum americanum*; CROT-*Crotalaria spectabilis*; BRIZ-*Brachiaria brizantha*; DECU-*B. decumbens*; HUMI-*B. humidicola* e RUZI-*B. ruziziensis*. Controle (sem aplicação de N); NO-nitrato de cálcio; NH-sulfato de amônio; SAMI-sulfato de amônio + inibidor de nitrificação (DCD) e 40 kg ha^{-1} de N aplicados aos 0 DAE do arroz. Médias com a mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem pelo teste LSD ($p \leq 0,05$).

Entretanto, Aita et al. (2007) observaram que o N amoniacal de dejetos suínos foi rapidamente nitrificado no solo em SPD e completamente oxidado a N nítrico, entre 15 e 20 dias após a aplicação dos dejetos. Assim, considerando a rapidez da nitrificação destaca-se o efeito do inibidor de nitrificação, visto que, a coleta do solo foi realizada 14 dias após a aplicação do N. Os resultados obtidos demonstram que o inibidor atuou sobre as bactérias nitrificantes, conforme pode ser observado na Tabela 2. A oxidação do amônio a nitrato foi reduzida em

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

33%. Cantarella & Marcelino (2008) observaram redução de 76% da oxidação do amônio a nitrato em ureia tratada com DCD passados 15 dias após a incubação do fertilizante ao solo. Considerando estes resultados, o uso do DCD pode ser uma técnica importante para retardar a nitrificação no caso de culturas que exigem quantidades equilibradas de nitrato e amônio, principalmente sob SPD, onde a nitrificação é favorecida. O inibidor de nitrificação DCD retarda a primeira fase da nitrificação desativando as enzimas das bactérias que convertem as formas de N amoniacais em nítrica, resultando em significativa redução da lixiviação de NO_3^- (Di & Cameron, 2004). Além dos benefícios resultantes da redução da lixiviação de NO_3^-, o DCD também pode ser utilizado como estratégia para redução das emissões de N_2O (Fageria et al., 2011).

Observando-se o desdobramento das plantas de cobertura em cada fonte de N, constatou-se que houve efeitos significativos, sendo que os teores médios de NH_4^+ foram poucos influenciados pelas plantas de cobertura (Tabela 1).

Tabela 2. Bactérias amonificantes e nitrificantes do solo na profundidade 0-5 cm em função do manejo da fonte de N e das plantas de cobertura. Botucatu-SP, 2010.

Manejo do N	Planta de cobertura[1]						Média
	MILH	CROT	BRIZ	DECU	HUMI	RUZI	
Fonte/época	Bactérias amonificantes (NMP grama de solo^{-1}) x 10^5						
Controle	2,7bB	0,6cC	3,8aA	3,4bcA	3,0aA	3,2aA	2,8a
NO-40	4,4aA	3,3aA	4,0aA	3,2cA	3,1aA	1,6bB	3,3a
NH-40	1,8cC	3,5aAB	1,9cC	5,1abA	2,5aBC	3,1aB	3,0a
NHI-40	2,3bcCD	1,9bD	3,0bBC	5,8aA	3,2aB	2,7aBCD	3,2a
Média	2,8B	2,3C	3,2AB	4,4A	3,0B	2,7B	-
	Bactérias oxidantes da amônia (NMP grama de solo^{-1}) x 10^2						
Controle	4,1bA	1,4bB	0,8bBC	4,0aA	0,7bC	4,8aA	2,6c
NO-40	4,1bB	0,5cC	1,1bC	5,3aAB	6,7aA	5,8aAB	3,9b
NH-40	6,6aA	4,3aA	5,0aA	5,6aA	6,8aA	6,6aA	5,8a
NHI-40	4,1bA	4,0aA	4,8aA	4,5aA	3,5aA	6,6aA	4,6b
Média	4,7B	2,6C	2,9C	4,9A	4,4B	6,0A	-
	Bactérias oxidantes do nitrito (NMP grama de solo^{-1}) x 10^2						
Controle	0,8bBC	1,3abAB	0,8cBC	0,4bC	2,4abA	0,4bC	1,0c
NO-40	3,7aA	0,7bC	1,9bB	4,3aA	2,3abAB	3,5aAB	2,7a
NH-40	3,3aAB	2,1aAB	4,1aA	2,8aAB	3,5aAB	1,7aB	2,9a
NHI-40	0,9bC	1,0bC	3,8aAB	4,0aA	1,3bBC	0,8bC	2,0b
Média	2,2A	1,3B	2,7A	2,9A	2,4A	1,6B	-

[1]MILH-*Pennisetum americanum*; CROT-*Crotalaria spectabilis*; BRIZ-*Brachiaria brizantha*; DECU-*B. decumbens*; HUMI-*B. humidicola* e RUZI-*B. ruziziensis*. Controle (sem aplicação de N); NO-nitrato de cálcio; NH-sulfato de amônio; NHI-sulfato de amônio + inibidor de nitrificação (DCD) e 40 kg ha^{-1} de N aplicados aos 0 DAE do arroz. Médias com a mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem pelo teste LSD ($p \leq 0,05$).. Para análise estatística, os dados foram transformados para log (x).

O teor de nitrato foi maior para as fontes amoniacais e menor para o controle (Tabela 1). Os menores teores de nitrato da fonte nítrica em relação às amoniacais podem estar associados a perdas de N por lixiviações ocasionadas pelas chuvas de dezembro de 2009 (mais de 300 mm), no decorrer dos 14 dias da aplicação do fertilizante até a coleta do solo. O nitrato é o elemento mais facilmente perdido por lixiviação (Frye et al., 1989; Fageria et al., 2011), acompanhando o movimento descendente da água que percola no perfil do solo (Cantarella & Marcelino, 2008). Essas perdas de nitrato ocorrem devido à predominância de cargas negativas na camada superficial do solo (Crusciol et al., 2011) e à

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

baixa interação química do ânion com os minerais do solo, principalmente em regiões com altas precipitações pluviais. Embora tenha ocorrido nitrificação das fontes amoniacais, o uso de inibidor reduziu esse efeito nas parcelas cultivadas com *Crotalaria spectabilis*, *B. humidicola* e *B. ruziziensis*. A redução dos teores de nitrato em relação à fonte sem inibidor para essas plantas de cobertura foi de 26, 28 e 40%, respectivamente (Tabela 1). O menor teor de nitrato para a crotalária pode estar relacionado à menor taxa de nitrificação para esta espécie. Aita et al. (2007) observaram que as taxas líquidas de nitrificação, em SPD, são maiores sobre os resíduos culturais de aveia/milho do que sobre pousio/milho. Como a palhada da crotalária se decompõe rapidamente a nitrificação pode ter sido prejudicada.

O índice pH do solo foi influenciado pela fonte de N (Tabela 1). A fonte amoniacal sem inibidor provocou redução dos valores de pH em quatro das seis plantas de cobertura utilizadas. A reação de nitrificação libera no solo íons de hidrogênio, que acidificam o solo (Cantarella, 2007). Este resultado demonstra que o inibidor reduziu a nitrificação, conforme já discutido anteriormente.

Antes do manejo das plantas de cobertura foram determinadas as bactérias amonificantes e nitrificantes (Figura 1). O menor e o maior número de bactérias amonificantes foram observados para a *Crotalaria spectabilis* e para a *Brachiaria decumbens*. O menor número de bactérias nitratadoras (oxidantes do nitrito) foi observado nas parcelas cultivadas com *Brachiaria brizantha*, *B. decumbens* e *B. humidicula* e o maior número nas parcelas com *Brachiaria ruziziensis*. Quanto ao número de bactérias nitritadoras (oxidantes da amônia) o menor valor foi observado com o cultivo de *Brachiaria ruziziensis* e o maior com o cultivo de *Crotalaria spectabilis*.

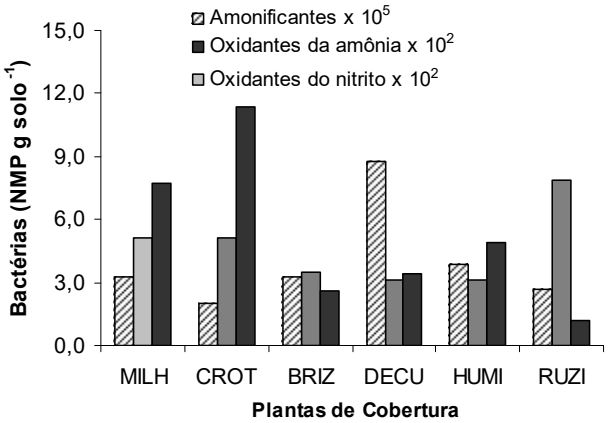


Figura 1. Efeito da fonte de N e de plantas de cobertura no número de bactérias amonificantes e nitrificantes do solo antes do manejo das plantas de cobertura. *MILH - *Pennisetum americanum*, CROT - *Crotalaria spectabilis*, BRIZ - *Brachiaria brizantha*, DEC - *B. decumbens*, HUMI - *B. humidicola* e RUZI - *B. ruziziensis*.

Na avaliação realizada aos 14 DAE, observou-se que as bactérias amonificantes foram influenciadas pelas plantas de cobertura e pela fonte de N (Tabela 2). Entretanto, apesar das diferenças, não houve uma forma de manejo que superasse as demais em todas as plantas de cobertura. A variabilidade de resultados para microorganismos do solo é previsível, principalmente para experimentos de campo com diversidade de tratamentos (Subbarao, 2009b).

Avaliando-se separadamente cada planta de cobertura em para cada fonte de N, verificou-se que

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

o maior número de bactérias amonificantes foi constatado nas parcelas cultivadas com *Brachiaria decumbens* (Tabela 2). Este resultado também foi observado na coleta antes da aplicação de N (Tabela 1).

As bactérias oxidantes da amônia (nitritadoras) também foram influenciadas pelas plantas de cobertura e pela fonte de N (Tabela 2). O maior número deste grupo de bactérias foi observado para as fontes amoniacais. Isto ocorreu devido ao amônio ser o substrato para estas bactérias, resultando na formação de nitrito. Ressalta-se, porém, que houve diferença entre as fontes amoniacais, ou seja, com a adição do inibidor o número de bactérias nitratadoras foi menor, o que demonstra o efeito deste produto na proliferação destas bactérias. De acordo com Amberger (1989) o inibidor possui efeito específico para bactérias nitrificadoras do gênero *Nitrosomonas*.

Com o desdobramento inverso (plantas de cobertura) observou-se que o menor número de bactérias nitritadoras ocorreu nas parcelas com crotalária (Tabela 2). Entretanto, como não foi feita a avaliação da relação C/N, supõe-se que esse resultado pode ter ocorrido devido à menor relação C/N da leguminosa em relação aos demais materiais e pelo fato dessa planta ter produzido menor quantidade de palha que foi rapidamente decomposta. Aita et al. (2007) observaram que as taxas líquidas de nitrificação, em SPD, são maiores com a presença de resíduos culturais de plantas de cobertura do que sobre pousio. Portanto, ausência de cobertura do solo pode ter prejudicado a atividade microbiana. O maior número deste grupo de bactérias foi observado nas parcelas cultivadas com *B. ruziziensis*, assim como observado antes da aplicação de N (Figura 1). A constituição bromatológica da *B. ruziziensis* pode ter favorecido a ação das bactérias. Estudos conduzidos por Pariz et al. (2010) demonstram que os teores de proteína bruta e NDT (nutrientes digestíveis totais) são maiores para esta espécie em relação as *B. brizantha, B. decumbens* e *B. humidicola*, enquanto as porcentagens de FDN (fibra em detergente neutro), FDA (fibra em detergente ácido) e celulose são menores.

Quanto ao número de bactérias oxidantes do nitrito (nitratadoras), os menores valores foram constatados para o controle (Tabela 2). Dentre as formas de manejo de N o menor número ocorreu quando se utilizou N na forma amoniacal com inibidor de nitrificação. Este resultado ocorreu devido a manutenção do N na forma amoniacal (Tabela 1) pela ação do inibidor sobre as bactérias nitritadoras. Com a inibição ocorreu menor formação de nitrito e, como conseqüência, menor atividade das bactérias nitratadoras.

Com o desdobramento das plantas de cobertura em cada fonte de N, observou-se que o menor número de bactérias oxidantes do nitrito ocorreu em parcelas cultivadas com *C. spectabilis* e *B. ruziziensis* (Tabela 2). O menor valor nas parcelas com *C. spectabilis* pode ter ocorrido pela menor relação C/N da leguminosa em relação aos demais materiais que proporcionou uma rápida decomposição da palhada. Nestas condições, normalmente, as bactérias nitrificantes são prejudicadas (Aita et al., 2007). Nas parcelas cultivadas com *B. ruziziensis* observou-se maior valor para bactérias nitritadoras e menor para nitratadoras. Este resultado indica que esta espécie pode exercer algum efeito inibidor nas bactérias que atuam na segunda etapa da nitrificação (nitrobacter).

Conclusões

não foi objetivo2. O uso do inibidor de nitrificação (dicianodiamida-DCD) inibiu parte das bactérias nitrificantes e proporcionou os maiores teores de amônio no solo;

3. A atividade das bactérias amonificantes e nitrificantes foi maior nas parcelas cultivadas com braquiárias;

Agradecimentos: À FAPESP pelo financiamento da pesquisa e ao CNPq pela bolsa de produtividade em pesquisa concedida ao segundo, quarto e quinto autores.

Referências Bibliográficas

AITA, C.; GIACOMINI, S.J.; HÜBNER, A.P. Nitrificação do N amoniacal de dejetos líquidos de suínos em solo sob sistema de plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.95-102, 2007.

AMBERGER, A. Research on dicyandiamide as a nitrification inhibitor and future outlook. **Communication in Soil Science and Plant Analyses**, v.20, p.1933-1955, 1989.

BREDEMEIRER, C.; MUNDSTOCK, C.M. Regulação da absorção e assimilação do N nas plantas. Ciência Rural, v.30, p.365-372, 2000.

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

CANTARELLA, H.; MARCELINO, R. **Fontes alternativas de N para a cultura do milho**. In: FANCELLI, A.L., ed. Milho: nutrição e adubação. Piracicaba, FEALQ, 2008. p. 36-55.

COCHRAN, W.G. Estimation of bacterial densities by means of the "most probable number". **Biometrics**, v.6, p. 105-116, 1950.

CRUSCIOL, C.A.C.; GARCIA, R.A.; CASTRO, G.S.A.; ROSOLEM, C.A. Nitrate role in basic cation leaching under no-till. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.35, p.1975-1984, 2011.

D'ANDRÉA, A.F.; SILVA, M.L.N.; CURI, N.; GUILHERME, L.R.G. Carbon and nitrogen storage, and inorganic nitrogen forms in a soil under different management systems. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.179-186, 2004.

DI, H.J.; CAMERON, K.C. Effects of temperature and application rate of a nitrification inhibitor, dicyandiamide (DCD), on nitrification rate and microbial biomass in a grazed pasture soil. **Australian Journal of Soil Research**, v.42, p 927-932, 2004.

FAGERIA, N. K; BALIGAR, V. C.; JONES, C. A. **Growth and Mineral Nutrition of Field Crops**. Boca Raton, CRC Press, 2011, 640 p.

FAGERIA, N. K. **Nitrogen management in crop production**. Boca Raton, CRC Press, 2014, 408 p.

FRYE, W.W. ; GRAETZ, D.A. ; LOCASCIO, S.J. ; REEVES, D.W. ; TOUCHTON, J.T. Dicyandiamide as a nitrification inhibitor in crop production in the southeasterns USA. Communication **in Soil Science and Plant Analyses**, v.20, p.1969-1999, 1989.

HOLZSCHUH, M.J.; BOHNEN, H.; ANGHINONI, I.; MEURER, E.J.; CARMONA F.C.; COSTA, S.E.V.G.A. Rice growth as affected by combined ammonium and nitrate supply. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**, v.33, p.1323-1331, 2009.

PARIZ, C.M. ; ANDREOTTI, M. ; AZENHA, M.V. ; BERGAMASCHINE, A.F. ; MELLO, L.M.M. Massa seca e composição bromatológica de quatro espécies de braquiárias semeadas na linha ou a lanço, em consórcio com milho no sistema plantio direto na palha. **Acta Scientiarum. Animal Science**, v.32, p.147-154, 2010.

POUDEL, D.D.; HORWATH, W.R.; LANINI, W.T. Comparison of soil N availability and leaching potential, crop yields and weeds in organic, low-input and conventional farming systems in northern California. **Agriculture Ecosystems & Environment**, v.90, p.125-137, 2002.

RAIJ, B.; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas, Instituto Agronômico, 2001, 285 p

RUBINIGG, M.; STULEN, I.; ELZENGA, J.T.M.; COLMER, T.D. Spatial patterns of radial oxygen loss and nitrate net flux along adventitious roots of rice raised in aerated or stagnant solution. **Functional Plant Biology**, v.29, p.1475-1481, 2002.

SARATHCHANDRA, S.V. Nitrification activities and the changes in the populations of nitrifying bacteria in soil perused at two different H-ion concentration. **Plant and Soil**, v.50, p.99-111, 1978.

SILVA, F.C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2ª ed. rev. ampl. Brasília, DF, Embrapa Informação Tecnológica, 2009, 627 p.

SUBBARAO, G.V.; WANG, H.Y.; ITO, O.; NAKAHARA, K.; BERRY, W.L. NH_4^+ triggers the synthesis and release of biological nitrification inhibition compounds in *Brachiaria humidicola* roots. **Plant and Soil**, v.290, p.245-257, 2007a.

SUBBARAO, G.V.; RONDON, M.; ITO, O. ISHIKAWA, T.; RAO, I.M.; NAKAHARA, C.L.; BERRY, W.L. Biological nitrification inhibition

(BNI) - is it a widespread phenomenon? **Plant and Soil**, v.294, p.5-18, 2007b.

SUBBARAO, G.V.; NAKAHARA, K.; ISHIKAWA, T.; YOSHIHASHI, T.; ITO, O.; ONO, M.; OHNISHI-KAMEYAMA, M.; YOSHIDA, N.; KAWANO, N.; BERRY, L. Free fatty acids from the pasture grass *Brachiaria humidicola* and one of their methyl esters as inhibitors of nitrification. **Plant and Soil**, v.313, p.89-99, 2008.

SUBBARAO, G.V.; KISHII, M.; NAKAHARA, K.; ISHIKAWA, T.; BAN T.; TSUJIMOTO, H; GEORGE, T.S.; BERRY, W.L.; HASH, C.T.; ITO, O. Biological nitrification inhibition (BNI) - Is there potential for genetic interventions in the Triticeae? **Breeding Science**, v.59, p.529-545, 2009a.

SUBBARAO, G.V.; NAKAHARA, K.; HURTADO, M.P.; ONO, H.; MORETA, D.E.; SALCEDO, A.F.; YOSHIHASHI, T.; ISHITANI, M.; OHNISHI-KAMEYAMA, M.; YOSHIDA, M.; RONDON, M.; RAO, I.M.; LASCANO, C.E.; BERRY, W.L.; ITO, O. Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.106, p.17302-17307, 2009b.