

Processos de fixação, imobilização e mineralização do amônio no solo, avaliados no laboratório com o emprêgo de ¹⁵N

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura «Luiz de Queiroz» da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de **Magister Scientiae** em Nutrição de Plantas.

por

Antonio M. Saravia

Centro de Investigaciones Agrícolas
La Estanzuela, Colonia, Uruguai

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
1970

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos são devidos às seguintes pessoas e instituições:

Prof. A.M. Louis Neptune pela orientação no presente trabalho.

Prof. Enéas Salati pelas análises das relações isotópicas.

Prof. José L. Dematté pelo material cedido.

Prof. Admar Cervellini pelas facilidades outorgadas ao trabalho realizado.

Sres. Tsai Sui Mui, Mario Cordero, Dirley Ducatti, João Michelotto,
Vivaldo Pinheiro Nunes e Valter Arthur pela ajuda nas análises
químicas, no espectrômetro de massa e na impressão deste trabalho.

Cadeira de Química Analítica pelo material emprestado.

Instituto Zimotécnico pelas análises realizadas.

Instituto Interamericano de Ciências Agrícolas e Organización de Estados
Americanos pela bolsa concedida.

Comissão Nacional de Energia Nuclear pela bolsa concedida.

E especialmente a todo o pessoal do Centro de Energia Nuclear na Agri-
cultura.

I N D I C E

| | Página |
|-----------------------------------------------------|--------|
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA | 4 |
| 2.1. Formas de nitrogênio do solo | 4 |
| 2.1.1. Formas minerais do nitrogênio do solo . | 4 |
| 2.1.2. Formas orgânicas do nitrogênio do solo | 7 |
| 2.2. Retenção do nitrogênio no solo | 9 |
| 2.2.1. Imobilização do nitrogênio no solo | 10 |
| 2.2.2. Fixação mineral do amônio no solo | 12 |
| 2.2.3. Fixação orgânica do amônio no solo | 14 |
| 2.3. Mineralização do nitrogênio no solo | 16 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 20 |
| 3.1. Solos | 20 |
| 3.2. Aparelho de destilação | 20 |
| 3.3. Tratamentos | 22 |
| 3.4. Fracionamento do nitrogênio | 23 |
| 3.5. Análise da relação isotópica | 25 |
| 3.6. Análise dos resultados | 27 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 28 |
| 4.1. Formas de nitrogênio no solo | 28 |
| 4.2. Fixação do amônio no solo | 32 |
| 4.3. Imobilização e mineralização do amônio no solo | 38 |
| 5. CONCLUSÕES | 49 |
| 6. RESUMO | 51 |
| 7. SUMMARY | 53 |
| 8. LITERATURA CITADA | 55 |

1. INTRODUÇÃO

Os índices de disponibilidade de nutrientes, avaliados através do emprego de análises químicas do solo, constituem o meio mais prático e econômico até agora utilizado nas recomendações de fertilizantes. Porém, os resultados obtidos nas fertilizações nitrogenadas, apoiadas nas análises de solo para nitrogênio, têm sido, em geral, desalentadores, levando em conta que na maioria dos experimentos de campo planejados para a calibração de métodos de análises para este nutriente, dificilmente têm-se encontrado índices de correlação superiores a 0,5. Compreende-se, então, a dificuldade de se basear na análise do solo para as recomendações quando o conteúdo de nitrogênio do solo explica somente os 25% da resposta à sua aplicação.

As principais causas deste fato, estribam em que a maior parte dos métodos de análises do nitrogênio do solo, empregada nas recomendações de fertilizantes nitrogenados, é empírica e não leva em conta os processos e as condicionantes que tornam disponível o nitrogênio para as plantas. Talvez a aproximação mais correta para uma análise de solo, que inclua aqueles processos, seja aquela que mede a capacidade de um solo de fornecer nitrogênio através da incubação, aeróbica ou anaeróbica, de uma amostra de solo durante um período de tempo determinado (HARMSSEN e VAN SCHREVEN, 1955; STANFORD e HANWAY, 1955; WARING e BREMNER, 1964). Infelizmente, o tempo que demanda a análise de cada amostra, fazem-na pouco adaptável à análises de rotina de laboratório.

Apesar desta limitação, acredita-se que a resposta ao problema da análise de nitrogênio esteja relacionada, de alguma forma, com a capacidade de mineralização do nitrogênio do solo, e, como consequência, com as formas orgânicas do mesmo. A maior parte das plantas cultivadas dependem exclusivamente do nitrogênio do solo e portanto, a incorporação deste nas plantas, deve estar necessariamente acompanhada por uma redução no seu conteúdo. Aquela ou aquelas formas de nitrogênio que demonstram serem as responsáveis - desta redução, estarão explicando a maior parte do aumento no conteúdo de nitrogênio na planta e assim, na ausência de outros fatores limitantes, à produção da mesma.

Daí, sugere-se que a aproximação ao problema de análises do nitrogênio do solo, seja realizada cobrindo as seguintes etapas sucessivas:

- a) Determinação das formas mais importantes do nitrogênio do solo,
- b) Determinação da participação destas formas nos processos de fixação, imobilização e mineralização do nitrogênio do solo,
- c) Determinação da influência da planta na avaliação dos processos descritos,
- d) Calibração, em casa de vegetação e em campo, dos métodos de análise daquelas formas que sejam as responsáveis pelo fornecimento de nitrogênio à planta, para finalmente, serem incluídos nas análises de rotina, para a recomendação de fertilizantes.

De acordo com este esquema, neste trabalho, tentam-se determinar -- em dois solos do Município de Piracicaba e em condições de laboratório:

- 1) As diferentes formas, inorgânicas e orgânicas, do nitrogênio do solo.

- 2) A fixação do amônio no solo,
- 3) As formas nas quais o amônio do solo adicionado se apresenta fixado ou imobilizado,
- 4) A mineralização do nitrogênio imobilizado medida durante um tempo determinado.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Formas de nitrogênio do solo

2.1.1. Formas minerais do nitrogênio do solo

É geralmente aceito que nos horizontes superficiais de solos normais, a fração mineral do nitrogênio raramente alcança 8 a 10% do nitrogênio total do solo. Esta fração está constituída por amônio solúvel, trocável e fixado, nitrito e nitrato. Segundo JANSSON (1958), dos componentes da mesma, somente o amônio solúvel e trocável pertencem à parte ativa do "contínuo ciclo interno" do nitrogênio do solo, sendo que o amônio fixado e o nitrato, em condições normais, são metabòlicamente inertes e não participam das transformações as quais estão sujeitas às demais formas nitrogenadas do solo.

Salvo o amônio fixado, o nitrogênio mineral do solo é solúvel em água e pode sofrer translocação por difusão ou ser arrastado pelo movimento da água para as camadas mais profundas do solo. Além disso, a sua incorporação no "contínuo ciclo interno", as suas possíveis perdas por desnitrificação, volatilização e extração pelas plantas, fazem que a determinação das formas minerais do nitrogênio do solo, esteja representando uma situação momentânea, e incapaz de predizer um estado posterior (HARMSSEN e KOLENBRANDER, 1965). Os métodos geralmente empregados para a determinação do amônio solúvel, trocável, nitrato e nitrito do solo incluem a extração ---

destas formas e a análise do extrato mediante técnicas de destilação ou de colorimetria. Porém, estes métodos apresentam certas limitações: por um lado, faz-se necessário realizar pelo menos duas extrações quando pretende-se analisar as três formas, e por outro lado, há interferências de constituintes orgânicos e inorgânicos do solo, falta de sensibilidade e são inaplicáveis a extratos turvos (BREMNER, 1965). BREMNER e KEENEY (1966), propõem um método que acreditam ser livre dessas limitações e mais adaptável às análises rápidas de rotina.

A existência de amônio fixado "nativo" no solo, foi demonstrada, pela primeira vez, por RODRIGUEZ (1954). Este fato veio invalidar, para alguns solos, o conceito de que a determinação do nitrogênio total, incluindo nitrato e nitrito, pudesse abranger todas as formas nitrogenadas do solo. A omissão da análise de amônio fixado pode levar a erros sérios quando o nitrogênio do solo é avaliado. (STEWART e PORTER, 1963).

Acredita-se que o mecanismo pelo qual o amônio é fixado no solo, esteja relacionado com a presença no solo, de argilas do tipo 2:1. Pela sua estrutura, o acoplamento entre os seus látices dá-se pelos tetraedros de silício, os quais formam, no látice, um hexágono de aproximadamente 2,8 Å de diâmetro. Neste espaço, acomodam-se, ajustadamente, ions de diâmetros iguais ou algo menor àquêles. Ions de raio iônico da ordem de 1,33 Å para o K⁺, 1,48 Å para o NH₄⁺ e para o Cs⁺, penetram nesse espaço e, pela sua aproximação das cargas elétricas negativas dos látices, provocam o acercamento dos mesmos e como consequência, o impedimento da rehidratação e da reexpansão --

dos látices e a fixação daquêles. Os ions de raio iônico da ordem de 0,60 para o Li, 0,95 para o Na, etc., não participam dêste fenômeno e podem entrar e deixar livremente os espaços interláticos sem causar alterações na separação dos mesmos (BARSHAD, 1954a, 1954b; PAGE e BAVER, 1940). O mesmo BARSHAD (1951) demonstrou que os cátions presentes no espaço interlático são facilmente substituíveis por aquêles que deixam os látices em estado expandido, mas dificilmente trocáveis por aquêles que os deixam contraídos. É assim que, cátions de raio iônico menor que 2,8 Å (Ca, Na, Mg, Li), podem substituir, lentamente, o NH_4^+ fixado, não podendo o K^+ fazer essa substituição devido a sua característica de contrair a argila. Nesta contração diferencial de acordo ao cátion presente no espaço interlático, baseou-se o trabalho realizado por RICH e LUTZ (1965) no qual demonstraram que 82% da variação na fixação de K^+ e NH_4^+ no horizonte superficial de alguns solos, estava relacionada com a diminuição na intensidade do pico 14 Å e seu deslocamento para 10 Å determinada pelo emprego de raios-X.

A partir do trabalho citado de RODRIGUEZ, outros autores desenvolveram métodos para a determinação do amônio fixado "nativo" do solo (BREMNER, 1959; DHARIWAL e STEVENSON, 1958; FRENEY, 1964; MOGILEVKINA, 1964; SILVA e BREMNER, 1966). BREMNER et al (1967) e MOGILEVKINA (1969), apresentam uma discussão e avaliação detalhada dos mesmos, mas de maneira geral, êstes métodos baseiam-se na oxidação prévia a N_2 das outras formas nitrogenadas do solo por meio de oxidantes fortes, e uma posterior liberação do amônio fixado pela destruição das argilas pelo emprego de soluções concentradas de HF e HCl ou H_2SO_4 .

Dependendo do tipo e conteúdo de argilas, a concentração de amônio fixado nos horizontes superficiais dos solos, dificilmente ultrapassa 5%, porém o seu conteúdo geralmente aumenta em profundidade e pode alcançar até 80% do nitrogênio total nos horizontes inferiores (ADAMS e STEVENSON, 1964; MIKAMI e KANEHIRO, 1968; STEVENSON, 1959; STEVENSON e DHARIWAL, 1959; YOUNG, 1962; YOUNG e CATTANI, 1962).

2.1.2. Formas orgânicas de nitrogênio do solo

Na maioria dos solos minerais, aproximadamente 90 a 99% do nitrogênio do solo encontra-se ligado organicamente. Apesar dos esforços realizados com o fim de identificar as formas do nitrogênio orgânico do solo, até agora somente a metade das mesmas tem sido determinada.

Vinte a 50% do nitrogênio total do solo é composto por aminoácidos identificados por técnicas cromatográficas devidas principalmente aos trabalhos de STEVENSON (BREMNER, 1967). Este autor, no trabalho citado, apresenta uma lista de trinta aminoácidos dos quais catorze são responsáveis pela maior parte do nitrogênio dos aminoácidos do solo. Acredita-se que esta conclusão é válida para a generalidade dos solos já que as diferenças são mais quantitativas do que qualitativas. Em relação ao conteúdo e distribuição no solo, BREMNER (1967), cita trabalhos de vários autores que admitem que o conteúdo de aminoácidos no solo varia com o clima, os trabalhos culturais e a fertilização, sendo a distribuição dos mesmos relativamente homogênea no perfil. Recentemente, GUPTA e REUSZER (1967), encontraram que 35% dos aminoácidos do solo é formado por ácido aspártico e prolina.

Supõe-se que a origem destas formas nitrogenadas orgânicas seja microbiana, dado que não existem provas conclusivas da presença de formas livres de aminoácidos do solo em quantidades apreciáveis. Com técnicas especiais de extração, PAUL e SCHMIDT (1960, 1961) demonstraram que o conteúdo de aminoácidos livres no solo não era superior a 2 ug por grama de solo.

As hexosaminas formam de 5 a 10% do nitrogênio total do solo e supõe-se que a glucosamina e a galactosamina sejam as predominantes. Em horizontes superficiais de solos áridos 23 a 40% em hexosaminas e até 24% no horizonte B dos planossolos (BREMNER, 1967).

As pirimidinas e purinas compõem aproximadamente 1% do nitrogênio total, e em quantidades menores, compostos nitrogenados orgânicos tais como trimetilamina, colina, histamina e asparagina (BREMNER, 1967).

A maioria dos métodos propostos para o estudo da fração orgânica do solo são semelhantes ao que diz respeito à hidrólise prévia da amostra -- com HCl 6N e durante 12 a 18 horas de aquecimento, porém diferem no fracionamento do hidrolisado. Alguns autores separam o hidrolisado em frações húmica e fúlvica, em solúvel em ácido destilável e não destilável, em amônio e nitrogênio total do hidrolisado; outros o separam em aminoácidos, hexosaminas, hidroxiaminoácidos, amônio e nitrogênio total do hidrolisado. Porém, nessas frações, encontram-se praticamente os mesmos componentes. Para STEVENSON (1960), a fração fúlvica é composta por amônio e a húmica por aminoácidos, aminoaçúcares e pirimidinas. STEWART et al (1963) supõe que a fração solúvel em ácido destilável esteja formada por amônio e aminoaçúcares e a --

solúvel não destilável, por aminoácidos. BROADBENT e THFNABADU (1967), separam em nitrogênio total e amônio hidrolisado, e da diferença entre os dois, resultam os aminoácidos e, finalmente, BREMNER (1965) fraciona o hidrolisado em aminoácidos, hidroxiaminoácidos, hexosaminas, amônio e nitrogênio total.

O amônio do hidrolisado é responsável por 15 a 30% de nitrogênio total do hidrolisado, e sua origem não é totalmente conhecida. Acredita-se que aquele amônio provém não somente da hidrólise dos grupos amídicos nas proteínas, como também da desaminação de hidroxiaminoácidos, hexosaminas e outros compostos amínicos do solo, e da liberação do amônio fixado nas argilas provocada pela hidrólise ácida.

Normalmente, apenas 70% do nitrogênio total do solo é dissolvido por ácido fervente, acreditando-se que o restante seja protegido, em alguma forma, pelos minerais do solo (ARSHAD e LOWE, 1966). Recentemente, FRENEY (1968), propôs um método de hidrólise que inclui um tratamento com NaOH--- 0,5N após o ataque com ácido, com o qual conseguiu aumentar o nitrogênio--solúvel em ácido até 90%.

2.2. Retenção do nitrogênio no solo

Preferiu-se, por razões de clareza na revisão do tema, incluir - neste item, todas as formas de retenção de amônio no solo, seja biológica, imobilização, ou não biológica, fixação na fração mineral e orgânica do solo.

2.2.1. Imobilização do nitrogênio no solo

A imobilização é definida como "a conversão de um elemento da forma inorgânica a orgânica nos tecidos microbianos ou vegetais, tornando o elemento não prontamente disponível para outros organismos ou para as plantas" (Soil Science Society of America, 1965).

Os processos que levam à imobilização do nitrogênio do solo são bem conhecidos, mas convém ressaltar, nesta revisão, alguns aspectos diretamente relacionados com este trabalho.

Dependendo de uma multiplicidade de fatores - fontes de energia - disponível para os microrganismos, população microbiana, umidade, temperatura, aeração, pH e quantidade de nitrogênio mineral no solo - o nitrogênio adicionado ao solo em forma de sais amoniacais ou nítricos, ou como compostos que liberam amônia no solo, pode sofrer uma série de processos microbiológicos que faz com que aquêles desapareça, total ou parcialmente, da solução do solo. A intensidade dos processos é tal que o amônio é normalmente imobilizado nos primeiros 10 dias de adicionado ao solo, tendo a máxima imobilização nas primeiras 48 horas (BROADBENT e TYLER, 1962, HIROSE et al, --- 1967; REID et al, 1969). A queda na intensidade dêstes fenômenos é atribuída ao esgotamento das fontes de energia para os microrganismos do solo e, - na morte dêstes últimos, parte de nitrogênio incluído nos tecidos é liberada.

O conhecimento do destino do nitrogênio adicionado e imobilizado no solo, foi grandemente facilitado, com a aplicação das técnicas que empregam traçadores. É assim que foi possível comprovar que do amônio adicionado ao

solo, após períodos de incubação de 14 dias, 65% do mesmo aparecia como nitrato, mas não foi possível encontrar nitrogênio marcado na fração amônio do solo, indicando que em 14 dias a imobilização alcançou 35% do nitrogênio adicionado (KETCHESON e JAKOVljeVIC, 1968). Com a utilização do isótopo estável do nitrogênio (^{15}N), alguns autores provaram que 35 a 80% do amônio adicionado, encontrava-se sob forma de aminoácidos após períodos de incubação de 1 até 135 dias, e quantidades muito menores, na forma de aminoaçúcares e amônio do hidrolisado (CHU e KNOWLES, 1966; REID et al, 1969; STEWART et al, 1963).

Apesar destes progressos nos estudos do destino do nitrogênio no solo, até agora as técnicas empregadas não podem distinguir entre, por exemplo, o nitrogênio proveniente de aminoácidos constituintes de microrganismos ou aquele de complexos nitrogenados organo-minerais; ou seja, não é possível muitas vezes, separar a retenção biológica da retenção não biológica do nitrogênio adicionado ao solo. Uma aproximação para o esclarecimento deste problema, foi apresentada por WAGNER e MUTATBAR (1968), os quais incubaram solos em presença de glucose ^{14}C e nitrogênio durante 6 meses. Após esse período, identificaram os aminoácidos do solo e determinaram a atividade do ^{14}C nos mesmos. Os resultados indicaram que os aminoácidos mais ativos foram: alanina, glicina, lisina e ácido glutâmico, e em menor grau, ácido aspártico, serina e treonina. Os autores concluem que a imobilização do nitrogênio foi devida, em grande parte, a atividade microbiana, pois os aminoácidos que apresentavam a maior atividade, são os principais constituintes

das paredes celulares dos microrganismos.

2.2.2. Fixação mineral do amônio no solo

Embora a existência de amônio fixado "nativo" no solo fora comprovada em 1954 por RODRIGUEZ, a fixação de amônio no solo era conhecida desde 1917 pelos trabalhos de McBETH, porém, o descobrimento foi ignorado por mais de trinta anos, devido talvez, à dificuldade de explicar o fenômeno (NOMMIK, 1965; BREMNER, 1965).

Os dois termos empregados, amônio fixado e fixação de amônio, podem trazer confusão, porém entende-se que amônio fixado é uma forma do nitrogênio no solo, enquanto que a fixação de amônio é um processo. O que demonstrou McBETH foi que, em alguns solos, não foi possível recuperar todo o amônio adicionado após uma extração com HCl 10% ou após uma destilação alcalina. Este achado é conhecido hoje como capacidade de fixação do amônio adicionado ao solo. Por sua vez, RODRIGUEZ comprovou a presença de amônio fixado já existente ou "nativo" do solo, o que constitui uma forma a mais de nitrogênio no solo.

O conceito de capacidade de fixação do amônio adicionado ao solo prevalece com ligeiras variantes, desde McBETH até nossos dias, e expressa a quantidade de amônio retido no solo, após uma lavagem com um determinado extractor. A mesma é normalmente determinada, adicionando ao solo uma quantidade conhecida de amônio, geralmente em quantidades tais como para saturar o solo de amônio e, após um período determinado de contato, lava-se a amostra tratada com uma solução de KCl 1 ou 2N; porém alguns autores preferem o

emprego de uma solução alcoólica 70-80% ou NaOH 1N. A diferença entre o conteúdo de amônio no lavado e aquele de uma amostra tratada com água nas mesmas condições, fornece a quantidade do amônio adicionado não fixado. -- Por diferença entre este último e a quantidade inicialmente adicionada, -- obtém-se o amônio fixado no solo. A maioria dos autores que trabalha neste campo, emprega este método e considera que o amônio que não apareceu no lavado, é retido no solo, na fração mineral do solo, em forma de amônio fixado (ADAMS e STEVENSON, 1964; ALLISON et al. 1953a, 1953b; AXLEY e LEGG, 1960; BLASCO e CORNFIELD, 1966; BOWER, 1950a, 1950b; LEGGET e MOODIE, 1962; LEGGET e MOODIE, 1963; NEWMAN e OLIVER, 1966; NOMMIK, 1957; NOMMIK, 1965; NOMMIK, 1966; PETERBOURSKY e SMIRNOV, 1966; VAN SCHREVEN, 1968). Evidentemente, este conceito exclui, tacitamente, qualquer outra forma de retenção do amônio adicionado.

Apesar da existência de métodos que determinam diretamente o amônio fixado no solo (veja-se o parágrafo 2.1.1. deste capítulo), e que eliminam as possíveis interferências na fixação mineral do amônio, eles têm sido muito pouco empregados no estudo deste fenômeno (SAYEGH e REHMAN, 1969; SHILOVA, 1969; WALSH e MURDOCK, 1960; WALSH e MURDOCK, 1963; YOUNG e McNEAL, 1964). A utilização destes métodos permite avaliar a incorporação, no tempo, do amônio adicionado à fração argila do solo. Porém, até agora não tem sido realizado um estudo comparativo dos dois métodos nem uma crítica à validade dos mesmos.

Os fatores que afetam a fixação do amônio adicionado ao solo têm

sido estudados exhaustivamente por vários autôres. A maioria dêles concorda em que as argilas vermiculíticas, montmorilloníticas hidratadas e illíticas são as responsáveis pela fixação do amônio no solo (DHARIWAL e STEVENSON, 1958; MORTLAND, 1958; MORTLAND e WALCOTT, 1965; NOMMIK, 1957; STEVENSON, 1959; YOUNG e McNEAL, 1964). Foi observado que a máxima fixação dá-se nas primeiras 6 a 12 horas após a adição do amônio e que esta fixação aumenta com o aumento da concentração do amônio adicionado, da temperatura e do pH (ALLISON et al, 1953; JANSSON, 1958; NOMMIK, 1957). A adição de potássio previamente à do amônio, provoca uma diminuição na fixação deste último, provavelmente devido à uma saturação dos pontos de fixação pelo ion potássio. A adição simultânea não exerce maior influência, e uma posterior à de amônio, causa um bloqueio na liberação do amônio fixado (HANWAY e SCOTT 1956; NOMMIK 1957).

2.2.3. Fixação orgânica do amônio no solo

A natureza dos complexos matéria orgânica-nitrogênio inorgânico têm sido estudados, geralmente, com o emprego de amônio anidro ou aqua amônia. Apesar de que, como frisa MORTLAND (1957), as reações da amônia no solo não podem ser completamente separadas daquelas do amônio, êles são quimicamente diferentes: a amônia é uma molécula elêtricamente neutra, mas altamente polar; no entanto, o ion amônio é carregado positivamente e possui as características de cátion. Porém, as interrelações são também consideráveis: amônia, na presença de moléculas de água residuais - moléculas altamente polarizadas nas proximidades de cátions trocáveis das superfícies das --

argilas - reage para dar amônio e ion hidróxido (MORTLAND e WALCOTT, 1965), e o amônio, em um meio alcalino, transforma-se em amônia (BREMNER, 1965). Esta última consideração leva alguns autôres a empregar indistintamente, sais de amônio ou amônia anidra nos experimentos de fixação (BROADBENT, 1968; BROADBENT et al, 1960; BURGE E BROADBENT, 1961).

Em três recentes monografias, foram expostas as teorias que tentam explicar o mecanismo de formação dos complexos organo-minerais nitrogenados do solo (MORTLAND e WOLCOTT, 1965; NOMMIK, 1965; BREMNER, 1967). A maioria das teorias está baseada nos trabalhos de MATTSON e KOUTLER-ANDERSON publicados em 1942 e 1943. Estes autôres, trabalhando com turfa, humus e lignina saturados com NH_4OH , encontraram que a fixação de amônio naquelas formas estava relacionada com uma reação simultânea de oxidação da lignina, evidenciada pelo desaparecimento de parte do oxigênio fornecida no experimento. A natureza exata do composto não é conhecida, mas a sua estabilidade foi demonstrada pelos mesmos autôres, os quais somente recuperaram 10% da amônia fixada após hidrólise com HCl 4N durante 24 horas. Além disso, os autôres admitem que a fixação esteja relacionada com a lignina e que é necessária a presença de anéis aromáticos com dois ou mais grupos OH.

A autoxidação da lignina, simultânea à fixação de amônio por meio de grupos fenólicos carboxílicos, foi comprovada mais tarde por BENNET (1950). SOHN e PEECH (1958) confirmam o fenômeno da autoxidação da matéria orgânica e supõem que este seja o responsável por pelo menos 50% da fixação de amônia nos solos estudados. A influência dos grupos hidroxílicos fenólicos na fixação, foi estudada por BURGE e BROADBENT (1961) que encontraram que a fixação

diminuía à medida que aquêles grupos eram bloqueados com metilsulfato, porém não conseguiram obter compostos nitrogenados a partir de aldeídos quando postos em contato com amônia. Estes autôres e NOMMIK e NILSSON (1963) obtiveram correlação positiva entre o conteúdo de matéria orgânica e fixação, sendo que a influência da fração argila foi desprezível.

Esta teoria tem sido criticada, principalmente pela dificuldade em isolar do solo, complexos ligno-proteicos e pela pouca quantidade de material encontrado até agora, que possa ser descrito como derivado da lignina. Segundo BREMNER (1967), merece maior crédito a hipótese de que a formação de complexos nitrogenados esteja relacionada com a reação entre compostos fenólicos ou quinonas e amônio ou aminoácidos. Baseia-se esta teoria no fato de que é provável que os reagentes para esta reação, encontram-se nos produtos de decomposição dos materiais vegetais no solo.

Recentemente foram apresentadas evidências de um outro mecanismo pelo qual a amônia ou o amônio pode ser retido pelo solo. SHCHERBAKOVA e colaboradores (1968) colocaram em solo previamente esterilizados, amônia e precursores de alanina e ácido glutâmico e, após 48 horas de contato, encontraram aumento no conteúdo de aminoácidos. A esterilização prévia faz supor uma imobilização não biológica do amônio no solo.

2.3. Mineralização do nitrogênio no solo

A Soil Science Society of America (1965) define o termo mineralização como "a conversão de um elemento da forma orgânica para um estado inorgânico como resultado de decomposição microbiana".

A mineralização do nitrogênio orgânico do solo é um processo lento, porém, de maneira geral, a taxa de mineralização no solo deve, necessariamente, exceder ao de imobilização. Se assim não acontecesse, não existiria nitrogênio disponível para as plantas (BROADBENT, 1968). JANSSON, citado por BARTHOLOMEW (1965), encontrou que apenas 2,6 a 4% do nitrogênio de fertilizantes na forma nítrica e 1,4 a 2,7% do nitrogênio de fertilizantes na forma amoniacal adicionados ao solo, foram mineralizados e recuperados por ano, numa cultura de aveia.

É difícil supor que o nitrogênio que não foi mineralizado em um ano, esteja imobilizado nos tecidos microbianos ou vegetais, já que produtos nitrogenados em forma de resíduos animais ou vegetais adicionados ao solo, não são particularmente resistentes à decomposição. Normalmente, produtos conhecidos como componentes dos tecidos animais e vegetais (quitina, proteínas, ácidos nucléicos, etc.) sofrem uma mineralização relativamente rápida quando adicionados ao solo (BREMNER, 1967). A razão desta estabilidade, discutida nos itens 2.2.2 e 2.2.3 parece estar relacionada com a imobilização do nitrogênio do solo em complexos orgânicos ou organo-minerais. Porém, não se pode descartar a possibilidade de que os produtos que vão formar estes complexos sejam originados da atividade microbiana.

A discussão dos processos que levam à produção de amônio, nitrato e nitrato a partir de compostos nitrogenados orgânicos, está fora dos objetivos desta revisão. Dar-se-á maior importância às informações relacionadas diretamente com experimentos de laboratório e em casa de vegetação,

onde a mineralização do nitrogênio no solo é medida através da produção de amônio ou nitrato, durante diferentes períodos de tempo, e através das transformações das outras formas nitrogenadas do solo.

Dada a pequena percentagem do nitrogênio total do solo que é mineralizado em um ano - 1 a 3% - a maioria dos métodos empregados para estudar as mudanças nas formas de nitrogênio do solo, incluem a adição de nitrogênio marcado com o fim de poder medir a incorporação do mesmo às diferentes frações do solo. Geralmente, os métodos de análise química comuns são muitas vezes incapazes de detectar as pequenas diferenças esperadas nesses processos.

Incubando amostras durante períodos de tempo relativamente curtos - de 15 a 150 dias - e com o emprego de $(N^{15}H_4)_2SO_4$, foi possível demonstrar que nos primeiros dias a máxima imobilização do nitrogênio adicionado ao solo dá-se em forma de aminoácidos, a seguir começa a diminuir até finalmente estabilizar-se. Foi comprovado que em 135 dias, os aminoácidos do solo diminuíram de 48 a 36% do nitrogênio total do solo, devido aos processos de mineralização, no entanto, as outras frações não mostraram flutuações (BROADBENT, 1968; CHU et al, 1966; STEWART et al, 1966). Resultados semelhantes foram encontrados por REID et al (1969): aumento inicial na incorporação de N^{15} nos aminoácidos para logo decrescer e finalmente estabilizar-se aos 40 dias de iniciada a experiência. No entanto, constataram aumento no teor de hexosaminas.

Dentre os fatores que podem influenciar a mineralização do nitrogênio do solo - disponibilidade de fontes de energia, umidade, temperatura,

pH, aeração - deve-se salientar o efeito do nitrogênio adicionado na forma de fertilizantes minerais ou orgânicos na mineralização do nitrogênio do solo. A maioria dos autores está de acordo, que o nitrogênio adicionado ao solo, provoca um efeito estimulante na liberação do nitrogênio imobilizado no solo. As causas deste estímulo não estão ainda bem estabelecidas, porém BROADBENT (1965) considera que o fenômeno não seja devido à uma troca iônica entre o amônio adicionado, com o amônio fixado na argila, nem com o trocável e nem com o nitrogênio na forma de amina. Na ausência de plantas, a incorporação de sais nitrogenados, pode causar destruição das paredes celulares dos microrganismos por efeitos osmóticos, liberar parte de nitrogênio imobilizado, e assim explicar, em parte, a ação estimulante.

Apesar destas afirmações, MEGUSAR, (1968), sustenta que o efeito do nitrogênio adicionado ao solo é depressivo, e não estimulante, em relação à mineralização do nitrogênio do solo. Em experimentos de laboratório, este autor encontrou produção menor de amônio e nitratos com a adição de 100 ppm de nitrogênio do que com 5 ppm. O autor explica este fato baseando-se na capacidade de fixação de amônio que possuem os solos estudados.

3. MATERIAIS E METODOS

3.1. Solos

Foram escolhidos dois solos do Município de Piracicaba considerados como extremos, em relação ao conteúdo e tipo de argila predominantes, para permitir uma melhor caracterização dos fenômenos de fixação, imobilização e mineralização do nitrogênio no solo.

- Série Lageadinho. Solo pertencente ao Grande Grupo Litossolo, substrato folhelho-argilita (Comissão de Solos, 1960) e classificado por RANZANI et al (1966) como Lithic Haplustoll.

- Unidade Tp 18. Pertence ao Grande Grupo Latossol Roxo (Comissão de Solos, 1960), e foi classificado ao nível de família como Typic Eutrorthox por ESCOBAR (1969).

As análises químicas e mineralógicas correspondentes são apresentadas na Tabela 1.

Amostras dos horizontes Ap dos dois solos, foram secas ao ar, tamizadas em peneira de malha 2 e a seguir em peneira de malha 100, dado que a maioria das análises a serem realizadas, exigiam esse grau de finura.

3.2. Aparêlho de destilação

Tôdas as formas nitrogenadas dos solos, salvo o nitrogênio total dos mesmos, foram destiladas em dois aparêlhos de destilação descritos por BREMNER e EDWARDS (1965).

ANÁLISE QUÍMICA

| Solos | pH | | C | N | Fe ₂ O ₃ | Ca | Mg | K | Al | H | CTC |
|------------|------------------|-----|------|------|--------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| | H ₂ O | KCl | | | | | | | | | |
| Eutrorthox | 5,6 | 4,9 | 1,22 | 0,14 | 26,8 | 4,0 | 1,3 | 0,1 | 0,2 | 5,0 | 11,4 |
| Lithic | 5,9 | 4,7 | 1,20 | 0,13 | 5,0 | 4,2 | 2,3 | 0,5 | --- | 3,8 | 11,2 |

ANÁLISE MINERALÓGICA

| Solos | Argila Grossa (2 - 0,2 u) | | | | | | Argila Fina (0,2 u) | | | | | |
|------------|---------------------------|------|------|------|-------|------|----------------------|-----|------|-------|---|--|
| | C | M | V | A | T | % | C | M | V | A | T | |
| Eutrorthox | 79,0 | 0,7 | 0,5 | 12,5 | 103,7 | 79,0 | 1,4 | 0,7 | 13,6 | 103,5 | | |
| Lithic | 23,0 | 48,4 | 10,0 | 9,2 | 90,6 | 51,0 | 18,0 | 8,0 | 13,9 | 90,6 | | |

Tabela 1. Análise química e mineralógica dos solos Eutrorthox e Lithic

C = Caulinita; M = Mica; V = Vermiculita; A = Amorfo; T = Total

3.3. Tratamentos

Para avaliar a capacidade de fixação e, a imobilização e mineralização do nitrogênio no solo, foram empregados dois tratamentos de N: 0 e 42 ppm equivalentes a 126 kg/ha de N. Como fonte de nitrogênio utilizou-se uma solução 0,003 N de sulfato de amônio com 29,470% de átomos de N^{15} que permite medir com maior precisão a possível incorporação do nitrogênio adicionado às frações minerais ou orgânicas do solo, e comparar as contribuições do nitrogênio do solo e do adicionado, no aumento ou diminuição de nitrogênio nas formas já assinaladas.

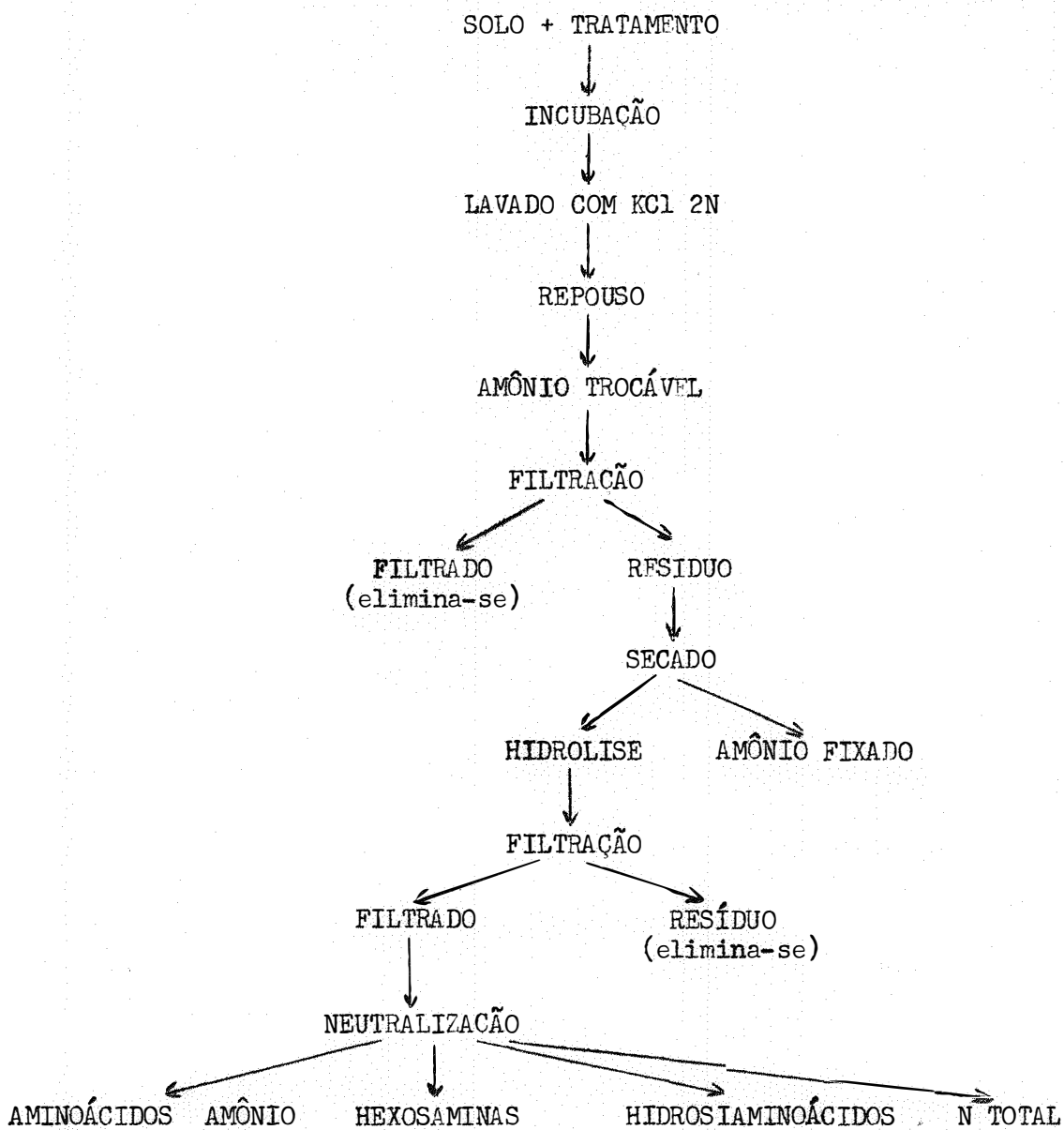
Quinze gramas de cada um dos solos, em duplicata, foram colocadas em Erlenmeyer de 250 ml ao qual agregou-se 15 ml da solução 0,003 N de sulfato de amônio com 29,470% de N^{15} , ao correspondente ao tratamento de 42 ppm de N, e 15 ml de água ao correspondente ao tratamento 0 de N. Esta relação solo: solução, criou um ambiente anaeróbico, o que permitiu que durante os períodos de incubação, o amônio fosse o produto final dos processos de mineralização. Preferiu-se este método ao aeróbico, pelas dificuldades inerentes ao mesmo (BREMNER, 1967; OLSON, 1960). Os frascos foram tampados ajustadamente e incubados durante 0, 2, 5, 15 e 30 dias em estufa a 30° C, com a finalidade de determinar a influência do tempo nos fenômenos a serem estudados.

Para eliminar a influência dos processos microbiológicos do solo na fixação e imobilização do nitrogênio do solo e estudar a possibilidade de distinguir entre retenção biológica e não biológica, iguais quantidades de solo e solução foram colocadas em Erlenmeyer de 250 ml, tampados com algodão

e esterilizados em autoclave a 120° C e 2 atmosferas de pressão, durante --- 20 minutos. Após êsse tempo, os solos foram incubados pelos períodos mencionados. Antes de serem analisadas, a eficiência da esterilização foi avaliada através do desenvolvimento de microrganismos em meio de cultivo.

3.4. Fracionamento do nitrogênio

A seguir, apresenta-se o esquema utilizado no presente trabalho:



Após cada período de incubação, adicionou-se no Erlenmeyer, 150 ml de KCl 2 N, o qual foi agitado durante duas horas em agitador mecânico. De corrido êsse tempo, o frasco foi deixado em repouso durante uma hora e do sobrenadante pipetou-se 20 ml, os quais foram utilizados para a determinação do amônio trocável segundo o método de BREMNER e KEENEY (1966).

Uma vez determinado o amônio trocável, o conteúdo do Erlenmeyer foi agitado manualmente por 10 segundos e filtrado em papel de filtro SS -- Faixa Prêta. O filtrado foi desprezado e o resíduo, juntamente com o papel de filtro, foi colocado em estufa a 50° C para secar. Escolheu-se esta temperatura para evitar a influência de altas temperaturas na fixação do amônio adicionado (ALLISON et al, 1953; BLASCO e CORNFIELD, 1966).

O solo sêco foi retirado do papel de filtro e 0,5 g colocados em beaker de 100 ml para serem analisados para determinar o amônio fixado de acordo com SILVA e BREMNER (1966). Do restante, 10 g foram colocados em Erlenmeyer de 125 ml e hidrolisados com HCl 6N durante 12 horas de acordo com o método de BREMNER (1965b). Empregou-se para tal fim, uma bateria de oito condensadores de refluxo ajustados nos Erlenmeyer e colocados em chapas quentes a uma temperatura de 85° C mantida constante por meio de reguladores de voltagem.

Após a hidrólise, o hidrolisado foi filtrado por duas vezes em filtro Buchner, com papel de filtro SS Faixa Vermelha e o filtrado foi recolhido em uma boêmia de 100 ml dentro de uma campanula de vidro a qual era ligada a uma bomba de vácuo. O filtrado foi logo neutralizado até pH 5,5 com NaOH 10N e até pH 6,5 com NaOH 0,5N em banho de gelo moído e com agitação --

constante para evitar ultrapassar o valor pH 6,5. O neutralizado foi colocado em balão volumétrico de 100 ml e completado o volume.

Para a análise das formas orgânicas de N mencionadas no esquema, foram tiradas partes alíquotas do balão, as quais foram analisadas para aminoácidos, hexosaminas, hidroxiaminoácidos, amônio e nitrogênio total segundo o método citado do BREMNER (1965b). A diferença entre o nitrogênio total do hidrolisado e N do aminoácido + hexosaminas + hidroxiaminoácidos + amônio, foi considerada como a fração não identificável do hidrolisado (KEENEY e BREMNER, 1966).

O nitrogênio total foi determinado de acordo com CATANI et al, (1955) para avaliar, por diferença com o nitrogênio total do hidrolisado, a fração não hidrolisável do nitrogênio do solo.

3.5. Análise da relação isotópica

Todos os métodos de análises químicas descritos provocam, no processo da destilação, transformação das formas nitrogenadas estudadas à amônia. A amônia é recebida em uma solução de ácido bórico, titulada com H_2SO_4 0,005N e conservada em meio ácido, obtido pela adição de 0,5 ml de H_2SO_4 1N, para a análise posterior no espectrômetro de massa (BREMNER, 1965c).

As duplicatas das amostras foram previamente misturadas (SMITH et al, 1963) e o volume reduzido a 5 - 6 ml em banho a 78° C (BREMNER, 1965d).

De 2 a 3 ml, de acordo com a riqueza em nitrogênio das amostras, foram pipetados para tubos de Rittemberg e tratados segundo a técnica descrita por RITTEMBERG (1946).

Os análises das amostras foram realizadas num espectrômetro Atlas CH₄ da Atlas mess-und Analysentechnik - GMBH - Bremen, Alemanha, instalado no Centro de Energia Nuclear na Agricultura. As amostras provenientes de formas nitrogenadas com baixo teor de nitrogênio, menos de 150 ug/3ml, foram analisadas fechando uma das válvulas de admissão e aumentando a amperagem a 40 microamperes na câmara de ionização do aparelho. Estas duas operações permitem, respectivamente, a passagem mais lenta do gás através da câmara e a intensificação do fluxo de elétrons na mesma, com as quais consegue-se aumentar as probabilidades de ionização das moléculas de N₂ (SALATTI, comunicação pessoal).

Segundo MARTIN e ROSS (1968) as correções mais empregadas para a contaminação das amostras na espectrometria de massa, baseiam-se na avaliação do tamanho dos picos 32, oxigênio, e 40, argônio. De acordo com SALATTI, (o.p.) foi escolhido, com aquele fim, o pico 32 e a sua contribuição para as massas 28 e 29, calculada

Dada a possibilidade de variações na relação isotópica natural, entre as diversas formas de nitrogênio no solo (CHENG et al, 1964), foi analisada a relação isotópica natural de uma amostra que recebeu o tratamento 0 de cada forma de nitrogênio do solo estudada.

A relação isotópica nas amostras foi calculada de acordo com RITTENBERG (1946) pela equação:

$$\text{Porcentagem de átomos de N}^{15} = \frac{100}{2R + 1}$$

onde R é o quociente da relação dos picos 28 e 29 dos quais foram previamente subtraídas as contribuições do "background" do aparelho e do pico 32.

3.6. Análises dos resultados

A capacidade de fixação foi determinada pela diferença entre o amônio trocável, do solo tratado com a solução de sulfato de amônio marcado, e daquele com água. Esta diferença foi subtraída da quantidade adicionada e o valor obtido correspondeu ao amônio fixado pelo solo. (ALLISON et al, 1953; AXLEY e LEGG, 1960; BOWER, 1950). A capacidade de fixação foi também avaliada pelo emprego de uma modificação do método descrito (NOMMIK, 1965), no qual, aquela é determinada diretamente pelo enriquecimento em ^{15}N que o extrato apresenta. A diferença deste valor com o enriquecimento da solução adicionada, fornece a quantidade de amônio fixado.

A contribuição do sulfato de amônio marcado adicionado ao solo, na variação em conteúdo de cada uma das formas nitrogenadas do solo estudadas, foi calculada com base nos resultados obtidos no espectrômetro de massa e de acordo com a fórmula:

$$\frac{\% \text{ de } ^{15}\text{N} \text{ em excesso na amostra}}{\% \text{ de } ^{15}\text{N} \text{ em excesso na solução}} \times \text{ppm de N na amostra} = \text{ppm de N na amostra proveniente da solução}$$

A diferença deste resultado com a quantidade de nitrogênio na amostra, fornece o valor da contribuição do solo para a variação da forma em estudo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Formas de nitrogênio no solo

Na Tabela 2, apresentam-se os dados correspondentes as formas de nitrogênio analisadas do horizonte Ap dos solos em estudo.

As formas minerais de nitrogênio analisadas, amônio trocável e fixado, diferem bastante quando os dois solos são comparados. Para o solo Lithic, o amônio trocável e o fixado, expressos como nitrogênio em ppm, alcançam 7 e 54 ppm respectivamente. De maior interesse é o conteúdo dos mesmos em valores relativos: 0,54 e 18,9% do nitrogênio total do solo. Pode-se apreciar, então, o ~~alto~~ conteúdo percentual de amônio fixado. A literatura referente ao conteúdo de amônio fixado em solos tropicais é escassa mas, RODRIGUEZ (1954) e recentemente, MIKAMI e KANEHIRO (1968), encontraram, para êstes tipos de solos, valores de 0 até 76% do nitrogênio total dos solos na forma de amônio fixado. Não obstante estas referências, a possibilidade de se encontrar solos nos quais grande parte do nitrogênio total do solo esteja em forma de amônio fixado, e possivelmente, não disponível para as plantas, não ~~deixa de ser~~ surpreendente.

No solo Eutrorthox, o amônio trocável alcança 15 ppm e o fixado 59 ppm, e ambos são responsáveis por 1 e 4,1% respectivamente do nitrogênio total do solo.

As razões destas diferenças no conteúdo de amônio fixado entre os dois solos, possivelmente, devem ser procuradas nos dados analíticos, quím

| Solo | N total | N trocável | N fixado | N hidrolizável | | | | | N não hidrolizável | |
|-------------|---------|------------|------------|----------------|--------------|-------------|----------------------|------------|--------------------|-------------------|
| | | | | Total | Amino-ácidos | Hexosaminas | Hidroxi-amino-ácidos | Amônio | | Não identificados |
| Lithic | 1306 | 0,54 (7) | 18,9 (247) | 83,3 (1088) | 31,2 (407) | 19,7 (258) | 6,0 (79) | 13,3 (174) | 13,0 (170) | 16,7 (218) |
| Euroorthrox | 1430 | 1,05 (15) | 4,1 (59) | 61,5 (880) | 27,0 (386) | 12,2 (174) | 4,7 (67) | 5,7 (81) | 12,0 (172) | 38,5 (550) |

Tabela 2. Formas e quantidades de nitrogênio expressas em percentagem nos solos analisados. Os números entre parênteses indicam ppm de N.

cos e mineralógicos, dos mesmos (veja-se Tabela 1). Como já foi salientado, três dos fatores que afetam o conteúdo de amônio fixado no solo, são o potássio, o valor pH e a matéria orgânica. O solo Lithic é mais rico em potássio, mas, praticamente, não existem diferenças entre eles no que diz respeito ao valor pH e ao conteúdo de matéria orgânica. A maior parte dos autores concorda que o potássio exerce uma influência depressiva na fixação do amônio quando adicionado previamente ao amônio, porém, em relação ao amônio fixado "nativo", o potássio presente na solução pode penetrar entre os látiçes e provocar um colapso dos mesmos. O amônio fica aprisionado na argila aumentando assim a quantidade de amônio fixado no solo. (ADAMS e STEVENSON, 1964; FRENEY, 1964; HANWAY e SCOTT, 1956; HINMAN, 1966).

Provavelmente, a causa mais importante da diferença no conteúdo de amônio fixado seja a predominância de illitas e o conteúdo relativamente alto de vermiculita do solo da série Lithic em relação ao solo Eutrorthox, no qual predomina a caulinita. A participação das argilas 2:1 na fixação de amônio já foi discutida, mas convém salientar que nem sempre a relação entre este tipo de argila e a fixação de amônio é direta, uma vez que alguns autores (KAILA, 1966; MIKAMI e KANEHIRO, 1968; YOUNG, 1964) encontraram correlação alta entre ambos, enquanto que outros (BURGE e BROADBENT, 1961; WALSH e MURDOCK, 1960) não obtiveram tal correlação.

Os resultados da hidrólise dos solos mostram que a mesma foi efetiva em 83,3% para o Lithic e somente em 61,5% para o Eutrorthox. A causa desta resistência à hidrólise é geralmente atribuída à presença de complexos organo-minerais que protegem a fração orgânica da ação do HCl 6N empregado. Apesar de que muitos autores acreditam que o maior efeito na formação

dêstes complexos corresponde à montmorillonita, e o menor à caulinita, (BREMNER, 1967), outros (ARSHAD e LOWE, 1966) comprovaram que os complexos organo-minerais estavam associados com a fração mais grossa dos solos estudados, na qual predominava a caulinita, e citam trabalhos nos quais foi possível demonstrar que o cálcio, o alumínio e o ferro podem estar envolvidos na absorção do humus à argila. A observação da análise química e mineralógica dos solos em estudo (veja-se Tabela 1) permite supôr que estas duas últimas observações expliquem a diferença na hidrólise que os solos manifestam, dado que o solo Eutrorthox, com predominância de caulinita e maior riqueza em ferro e alumínio, apresenta maior resistência à hidrólise.

Na fração hidrolisável dos solos estudados, a variação no conteúdo de nitrogênio total do hidrolisado nos dois solos, é atribuível às diferenças já discutidas no parágrafo anterior. Os valores relativos à serina e treonina, reunidos sob o nome de hidroxiaminoácidos (BREMNER, 1965) e os de aminoácidos, encontram-se dentro dos valores esperados, segundo a literatura consultada (KEENEY e BREMNER, 1966). Êstes últimos autôres e STEVENSON (1957), encontraram valores relativos muito menores para hexosaminas que aquêles que apresentam os solos estudados, porém, na literatura revisada, não aparecem dados relacionados a hexosaminas para solos de regiões tropicais, pelo que é provável que os valores encontrados sejam normais para os solos analisados. O amônio do hidrolisado correspondente ao solo Lithic mostra valores maiores que aquêles do solo Eutrorthox. Possivelmente, a causa dêste fato seja devido a que uma parte considerável do amônio presente no hidrolisado é originado do amônio fixado na argila, dado que se tem evidências

de que a hidrólise com HCl 6N libera grande parte do amônio fixado (CHENG e KURTZ, 1963; SOWDEN, 1958). Da comparação dos dados para amônio fixado e amônio do hidrolisado dos dois solos, é possível concluir que o maior conteúdo de amônio na fração hidrolisada do solo Lithic seja devido a uma liberação mais intensa do amônio fixado deste solo.

É interessante salientar finalmente que o nitrogênio do hidrolisado não identificável, obtido pela diferença entre nitrogênio total do hidrolisado e a soma das outras formas orgânicas nitrogenadas do mesmo, é praticamente igual nos dois solos em estudo, e menor ao encontrado por KEENEY e BREMNER, (1967).

4.2.. Fixação do amônio no solo

Na Tabela 3, apresentam-se os dados obtidos quando a fixação de amônio é determinada pelo método de ALLISON et al (1953) modificado.

| <u>Solos</u> | <u>Tempo de incubação em dias</u> | | | | |
|--------------|-----------------------------------|-----------|----------|----------|----------|
| | 0 | 2 | 5 | 15 | 30 |
| Eurorthox | 0 | 26,2 (11) | 19,0 (8) | 16,7 (7) | 11,9 (5) |
| Lithic | 0 | 19,0 (8) | 11,9 (5) | 11,9 (5) | 7,1 (3) |

Tabela 3. Capacidade de fixação, expressa em percentagem, do amônio adicionado ao solo determinada de acôrdo com ALLISON et al (1953) modificado. Os números entre parênteses correspondem a valores arredondados em ppm de N - NH₄⁺

De acôrdo com a mesma, nos dois solos, a capacidade de fixação de amônio alcança o máximo aos dois dias de ter-se adicionado ao solo para após diminuir com o tempo. A literatura não é muito extensa em relação à influên-

cia do tempo na fixação do amônio pelo solo, mas supõe-se que a máxima fixação ocorre nas primeiras 48 horas, e que após êsse tempo, a mesma permanece constante (NOMMIK, 1965). Esta última afirmação merece crédito se se considera que todo o amônio que não apareceu no extrato após a lavagem com KCl 1 ou 2N, esteja fixado entre os látices das argilas do solo, e que o mesmo não seja apreciavelmente nitrificável, lixiviável, nem removível pelas plantas. A primeira suposição está sustentada pela maioria dos autôres que trabalham neste campo (veja-se item 2.2.2) e a segunda por BOWER (1950); PETERBURGSKY e SMIRNOV (1966); VAN SCHREVEN (1968); e WALSH e MURDOCK (1963). Porém, os resultados expostos permitem supor que: ou nem todo o amônio que não foi recuperado na lavagem é fixado, ou, se o foi, a fixação não é suficientemente intensa para impedir a sua liberação.

A relativa validez daquelas suposições faz-se mais evidente com a observação dos resultados, da Tabela 4, os quais foram obtidos quando a capacidade de fixação é determinada diretamente pela diminuição de nitrogênio ^{15}N adicionado no extrato da lavagem com KCl 2N.

Êstes dados indicam que somente para o solo Lithic, a máxima fixação do amônio adicionado foi alcançada aos 2 dias de incorporado, dado que para o solo Eutrorthox, a mesma ocorre aos 5 dias. Porém, nos dois solos, a fixação tende, como no caso anterior, a diminuir com o tempo.

A análise dos dados destas duas tabelas indicam que, se os valores obtidos correspondem realmente ao amônio fixado na fração argila, o mesmo é facilmente liberado para a solução do solo. Assim mesmo, os dados da Tabela 4 mostram que o amônio fixado, determinado pelo método de extração com KCl 2N,

Solos

| | Tempo de incubação em dias | | | | |
|------------|----------------------------|------|------|------|------|
| | 0 | 2 | 5 | 15 | 30 |
| Eutrorthox | 0 | 57,1 | 97,6 | 85,7 | 50,0 |
| Lithic | 0 | 61,9 | 47,6 | 45,2 | 33,3 |

Tabela 4. Capacidade de fixação, expressa em percentagem, do amônio $-^{15}\text{N}$ adicionado ao solo, determinada de acôrdo com NOMMIK (1965).

não está unicamente constituído pelo amônio adicionado, como era de se esperar de acôrdo com o critério aceito de capacidade de fixação. Para o solo Eutrorthox, a máxima participação do amônio adicionado no fixado foi de 97,6%, mas aos 30 dias de incorporado foi de somente 50%. Este fato é mais notável no solo Lithic, no qual a máxima contribuição ocorre aos 2 dias com 61,9% e a mínima, também aos 30 dias, com 33,3%.

A tabela seguinte apresenta os dados correspondentes à análise do amônio fixado proveniente da solução de sulfato de amônio $-^{15}\text{N}$ marcada e determinados segundo SILVA e BREMER (1966).

Acredita-se que as diferenças notáveis que surgem quando se comparam os valores mostrados nas Tabelas 3, 4 e 5, sejam devidas a que, como já foi salientado, a maioria dos métodos que determinam a capacidade de fixação do amônio adicionado através da extração com KCl 1 ou 2N, baseiam-se em que todo o amônio que não é extraído, fica retido entre os látices das argilas. Os dados da Tabela 5, parecem demonstrar que esta suposição não é correta, já que, salvo o valor obtido aos 15 dias para o solo Eutrorthox, a capacidade de ----

| <u>Solos</u> | Tempo de incubação em dias | | | | |
|--------------|----------------------------|---------|---------|----------|---------|
| | 0 | 2 | 5 | 15 | 30 |
| Eutrorthox | 0 | 4,8 (2) | 4,8 (2) | 11,9 (5) | 2,4 (1) |
| Lithic | 0 | 4,8 (2) | 4,8 (2) | 4,8 (2) | 4,8 (2) |

Tabela 5. Capacidade de fixação de amônio, expressa em percentagem do amônio adicionado, determinada de acordo com SILVA e BREMNER (1966). Os números entre parênteses correspondem a valores arredondados em ppm de N - $^{15}\text{NH}_4^+$.

fixação não ultrapassa 5% da quantidade de amônio adicionado nos dois solos. É de se supor que a determinação da capacidade de fixação do amônio adicionado através da extração com KCl encobre dois fatos: 1) a possibilidade de uma outra forma de fixação e/ou imobilização do amônio adicionado além da verificada nas argilas; e 2) a influência do amônio já presente na solução do solo, na fixação do adicionado.

A Tabela 6 permite apreciar a participação da atividade microbiana na capacidade de fixação de amônio adicionado.

A eliminação da atividade microbiana no solo por meio da esterilização do mesmo, traz como consequência a queda brusca na capacidade de fixação evidenciada na comparação dos valores das tabelas 3 e 6. A esterilização prévia dos solos permitiu também, confrontando os resultados das Tabelas 5 e 6, distinguir entre fixação do amônio na argila, daquele retido através de processos não biológicos.

| Solos | Tempo de incubação em dias | | | | |
|------------|----------------------------|----------|---------|---------|---------|
| | 0 | 2 | 5 | 15 | 30 |
| Eutrorthox | 0 | 11,9 (5) | 4,8 (2) | 9,5 (4) | 2,4 (1) |
| Lithic | 0 | 11,9 (5) | 7,1 (3) | 0 (0) | 7,1 (3) |

Tabela 6. Capacidade de fixação de amônio, expressa em percentagem, do amônio adicionado a solos previamente esterilizados e determinada de acordo com ALLISON et al (1953), modificado. Os números entre parênteses correspondem a valores arredondados em ppm de N - $^{15}\text{NH}_4^+$.

Nas Figuras 1 e 2, reúnem-se, para cada solo estudado, os resultados obtidos com o emprego dos três métodos de determinação da capacidade de fixação de amônio adicionado ao solo. A possível causa das diferenças encontradas quando os três métodos são comparados, é atribuível a que o método que determina a fixação de amônio pela extração com KCl 2N, é incapaz de diferenciar entre as diferentes vias pelas quais o amônio desaparece da solução do solo, e assim atribui à fixação na argila, a inclusão, através da atividade microbiana ou não, nas outras frações do solo.

Este fato, provavelmente, esteja explicando as contradições muitas vezes encontradas na literatura, no que tange à disponibilidade do amônio fixado. Já se fez referência a autores que encontraram que o amônio fixado, dificilmente passa à solução do solo ou é nitrificado, porém ALLISON et al (1953); AXLEY e LEGG (1960); e LEGG e ALLISON (1959) encontraram resultados opostos. Acredita-se que a maior ou menor disponibilidade do amônio não extraído por KCl 1 ou 2N, esteja relacionada com outras frações, e não com o

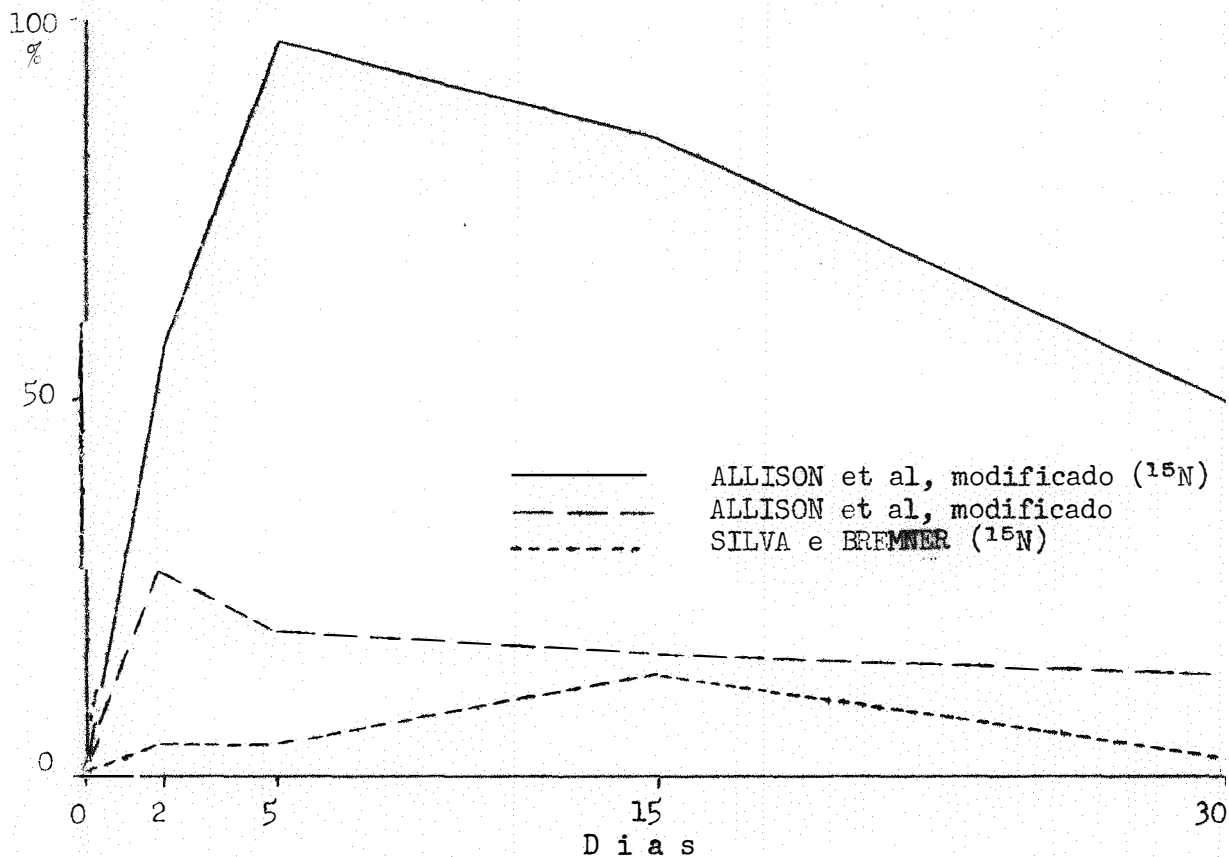


Fig. 1. Fixação do amônio adicionado ao solo Eutrorthox determinada por três métodos. Os resultados são expressos em percentagem do amônio adicionado.

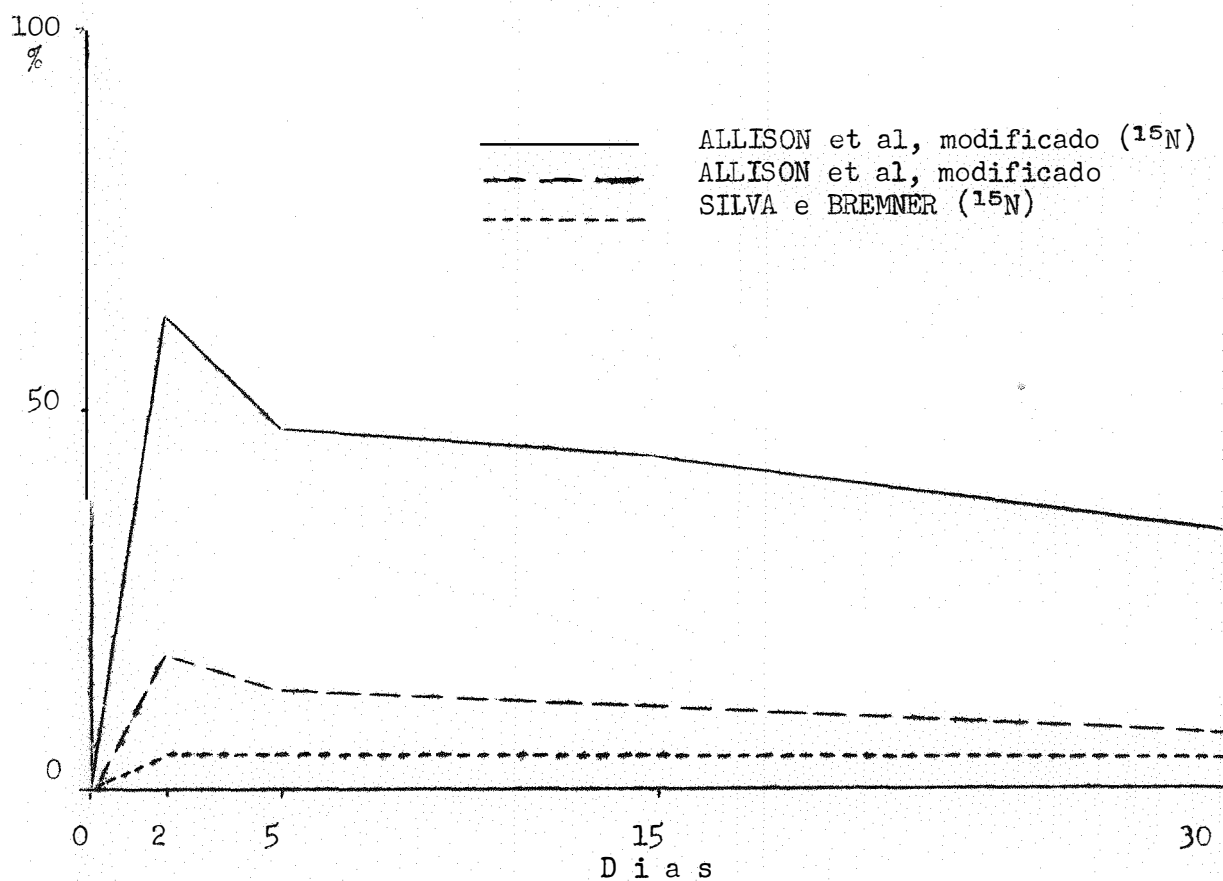


Fig. 2. Fixação do amônio adicionado ao solo Lithic determinada por três métodos. Os resultados são expressos em percentagem do amônio adicionado.

amônio fixado nos látices de argila. Esta mesma razão pode explicar a conclusão à que chegam BLASCO e CORNFIELD (1966) de que o amônio que é fixado após ser incorporado ao solo é mais facilmente transformado a amônio trocável do que o amônio fixado nativo.

4.3. Imobilização e mineralização do amônio no solo

Os processos de imobilização e mineralização do amônio no solo foram avaliados através de aumento ou diminuição de amônio trocável e das formas orgânicas de nitrogênio analisadas. Os valores das relações isotópicas do nitrogênio correspondentes as formas estudadas, permitem distinguir entre as contribuições do amônio do solo e do adicionado nas variações daquelas. Nesta avaliação não será considerada a participação do amônio fixado por considerar a mesma desprezível (veja-se Tabela 5).

Na Tabela 7 e na Figura 3, apresentam-se os valores correspondentes à avaliação dos processos referidos no solo Eutrorthox. Sem tomar em consideração a variação no conteúdo do nitrogênio total do hidrolisado, o qual, praticamente, é apenas um reflexo do que está acontecendo nas outras formas, aquelas que variam sensivelmente com o tempo de incubação, a constituem os aminoácidos, hexosaminas, amônio do hidrolisado e amônio trocável.

Os aminoácidos, que no primeiro dia alcançam 386 ppm, aumentam em conteúdo até os 15 dias de iniciada a incubação, atingindo 520 ppm, para logo descer a 431 ppm. Em outras palavras, a imobilização do nitrogênio no solo, para a forma de aminoácidos tem um máximo aos 15 dias de iniciada a experiência, após os quais começam os processos de mineralização dos aminoácidos, evidenciada pela diminuição do conteúdo destes. É interessante salientar que a participação do amônio adi

| | | Tempo de incubação em dias | | | | |
|-----------------------------|---|----------------------------|--------------|--------------|--------------|---------------|
| | | 0 | 2 | 5 | 15 | 30 |
| Amônio trocável | S | 100 (15) | 58,6 (25,8) | 97,1 (45,6) | 89,5 (51,9) | 77,8 (74,7) |
| | A | 0 (0) | 41,3 (18,2) | 2,9 (1,4) | 10,5 (5,1) | 22,2 (21,3) |
| | T | 15 | 44 | 47 | 58 | 96 |
| Amônio esc. dos | S | 100 (386) | 98,6 (452,4) | 99,3 (461,6) | 99,2 (520,0) | 99,1 (427,2) |
| | A | 0 (0) | 1,4 (6,6) | 0,7 (3,4) | 0,8 (4,0) | 0,9 (3,8) |
| | T | 316 | 459 | 465 | 524 | 431 |
| Hexose ⁽¹⁾ minas | S | 100 (174) | 99,3 (125,2) | 98,8 (169,9) | --- (2) | 99,2 (305,5) |
| | A | 0 (0) | 0,7 (0,8) | 1,2 (2,1) | --- (2) | 0,8 (2,5) |
| | T | 174 | 126 | 172 | 274 | 308 |
| Hidroxiâmínoécidos | S | 100 (67) | 92,4 (56,3) | 98,0 (77,5) | 94,1 (63,1) | 93,5 (66,4) |
| | A | 0 (0) | 7,6 (4,7) | 2,0 (1,5) | 5,9 (3,9) | 6,5 (4,6) |
| | T | 67 | 61 | 73 | 67 | 71 |
| Amônio do hidrolisado | S | 100 (81) | 99,1 (221,0) | 99,3 (221,4) | 98,6 (157,7) | 99,2 (166,7) |
| | A | 0 (0) | 0,9 (2,0) | 0,7 (1,6) | 1,4 (2,3) | 0,8 (1,3) |
| | T | 81 | 223 | 223 | 160 | 168 |
| N total do hidrolisado | S | 100 (880) | 99,5 (930,4) | 99,3 (988,2) | 99, (1078,6) | 99,1 (1125,7) |
| | A | 0 (0) | 0,5 (4,6) | 0,7 (6,8) | 0,7 (7,4) | 0,9 (10,3) |
| | T | 880 | 935 | 995 | 1086 | 1136 |

Tabela 7. Avaliação dos processos de imobilização e mineralização do amônio no solo Eutrorthox. A contribuição do solo e do adubo para as transformações das formas estudadas é expressa em percentagem. Os números entre parênteses correspondem a ppm de N. S = Solo; A = Adubo; T = Total.

- (1) Valores corrigidos de acordo com SOWDEN (1958).
- (2) Amostras perdidas.

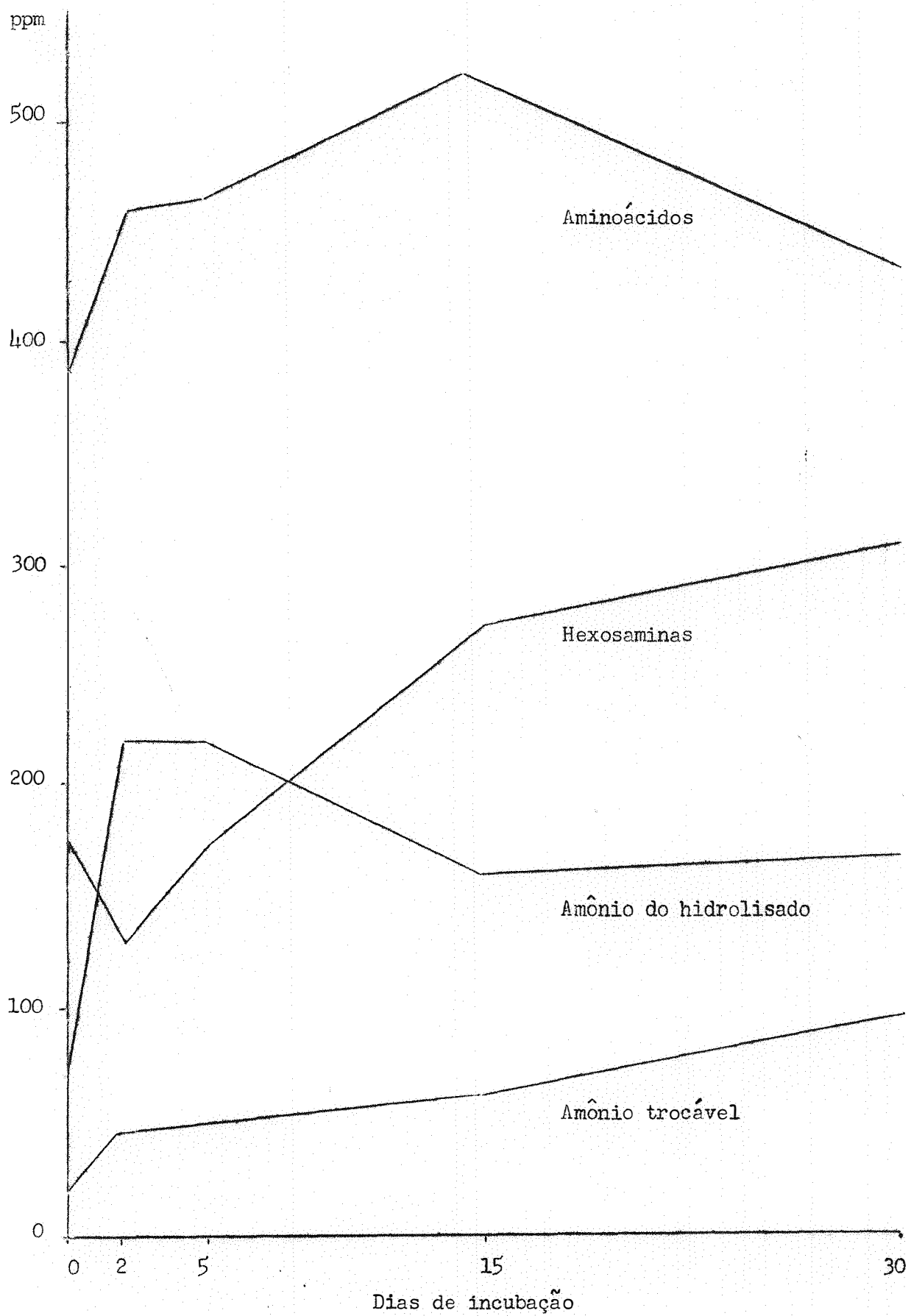


Fig. 3. Variação com o tempo de incubação das formas nitrogenadas analisadas do solo Eutrorthox.

cionado nas variações no teor de aminoácidos, mostra tendências opostas as descritas. Esta participação, expressa em percentagem do aminoácidos total é de 1,4% aos dois dias, a seguir, desce bruscamente, e após manter-se constante até os 15 dias, apresenta um aumento aos 30 dias.

O conteúdo das hexosaminas do solo, sofre uma rápida diminuição até os dois dias, e a partir daí, um constante aumento. Verifica-se que contrariamente ao que ocorre com aminoácidos, nas hexosaminas, os processos de mineralização dão-se primeiro, para posteriormente ocorrerem os de imobilização. A tendência da participação do amônio adicionado no aumento das hexosaminas, como no caso anterior, segue um caminho diferente.

O amônio do hidrolisado comporta-se de forma similar aos aminoácidos, no que tange à influência do tempo de incubação nas mudanças no seu conteúdo. Apesar desta influência ser menos drástica, o amônio do hidrolisado apresenta inicialmente um aumento no conteúdo, imobilização, e, logo dos primeiros 5 dias, uma diminuição no seu teor, mineralização, até o fim do período da experiência. Novamente, a participação do amônio adicionado, não segue a tendência descrita.

As transformações com o tempo que sofrem as formas mencionadas, são similares as encontradas por outros autores (BROADBENT, 1968; ~~KEE~~ NEY e BREMNER, 1966; REID et al, 1969; STEWART et al, 1963).

O fato, que se repete nas três formas discutidas, de que o amônio adicionado não acompanha as mudanças nas formas orgânicas estudadas de nitrogênio do solo, é de difícil explicação em face dos conhecimentos descritos na literatura consultada. Porém, atribuir o fenômeno ao aumento ou di-

minuição no teor das formas mencionadas unicamente à desapareição ou aparição do amônio da solução do solo, possa não ser a conclusão mais acertada. É provável que as transformações das formas orgânicas nitrogenadas do solo estejam se processando sem ter, necessariamente, que passar pela forma de amônio, ou seja, que uma forma orgânica pode dar lugar à formações de outra, diretamente, através de processos biológicos ou não.

Apesar destas considerações, faz-se evidente que de acordo com os dados da Tabela 7, as mudanças nos teores do amônio trocável estão relacionadas com as que experimentam as formas orgânicas nitrogenadas em estudo. O lento ascenso do amônio trocável, verificado nos primeiros 15 dias da incubação, pode ser relacionado à imobilização violenta que se verifica nos aminoácidos e não compensada pela mineralização inicial das hexosaminas nem por aquela que se produz no amônio do hidrolisado aos 5 dias de iniciada a incubação. Entre os 5 e 15 dias para o amônio do hidrolisado, e entre os 15 e 30 dias para os aminoácidos, produz-se um rápido processo de mineralização destas duas formas, o que pode explicar o aumento de quase 70% no conteúdo de amônio trocável registrado aos 30 dias.

Os resultados da incubação do solo Lithic (Tabela 8 e Figura 4) são, em geral, semelhantes aos que apresenta o Eutrorthox. Assim mesmo, a variação com o tempo de incubação do amônio fixado, e dos hidroxiaminoácidos é mínima. As diferenças apreciáveis, em relação ao Eutrorthox, aparecem fundamentalmente, nos períodos nos quais se produz a máxima imobilização do nitrogênio no solo, e na participação de amônio adicionado -

| Formas | Tempo de incubação em dias | | | | | |
|------------------------|----------------------------|------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | 0 | 2 | 5 | 15 | 30 | |
| Amônio trocavél | S | 100 (7) | 60,3 (23,5) | 60,8 (34,1) | 63,1 (39,7) | 69,9 (64,3) |
| | A | 0 (0) | 39,7 (15,5) | 39,2 (21,9) | 36,9 (23,3) | 30,1 (27,7) |
| | T | 7 | 39 | 56 | 63 | 92 |
| Amino-ácidos | S | 100 (407) | 99,3 (514,5) | 97,3 (486,8) | 99,1 (403,1) | 99,3 (389,4) |
| | A | 0 (0) | 0,7 (3,5) | 1,9 (9,2) | 0,9 (3,9) | 0,7 (2,6) |
| | T | 407 | 518 | 496 | 407 | 392 |
| Hexosaz(1) minas | S | 100 (258) | 99,3 (108,3) | 99,2 (162,7) | 99,0 (167,3) | 98,9 (178,0) |
| | A | 0 (0) | 0,7 (0,7) | 0,8 (1,3) | 1,0 (1,7) | 1,1 (2,0) |
| | T | 258 | 109 | 164 | 169 | 180 |
| Hidroxi-aminoácidos | S | 100 (79) | 97,6 (101,7) | 98,9 (98,9) | 99,7 (86,7) | 99,5 (94,5) |
| | A | 0 (0) | 2,4 (2,3) | 1,1 (1,1) | 0,3 (0,3) | 0,5 (0,5) |
| | T | 79 | 104 | 100 | 88 | 95 |
| Amônio do hidrolisado | S | 100 (174) | 98,6 (300,1) | 99,0 (283,0) | 98,9 (270,0) | 99,1 (250,7) |
| | A | 0 (0) | 1,4 (4,4) | 1,0 (3,0) | 1,1 (3,0) | 0,9 (2,3) |
| | T | 174 | 305 | 286 | 273 | 253 |
| N total do hidrolisado | S | 100 (1088) | 99,2 (1126,6) | 98,9 (1223,9) | 99,1 (1133,0) | 99,2 (1117,9) |
| | A | 0 (0) | 0,8 (9,4) | 1,1 (14,1) | 0,9 (10,0) | 0,8 (9,1) |
| | T | 1088 | 1136 | 1238 | 1143 | 1127 |

Tabela 8. Avaliação dos processos de imobilização e mineralização do amônio no solo Lithic. A contribuição do solo e do adubo são expressos em percentagem. Os números entre parênteses correspondem a ppm de N. S = Solo; A = Adubo; T = Total.

(1) Valores corrigidos de acordo com SOWDEN (1958).

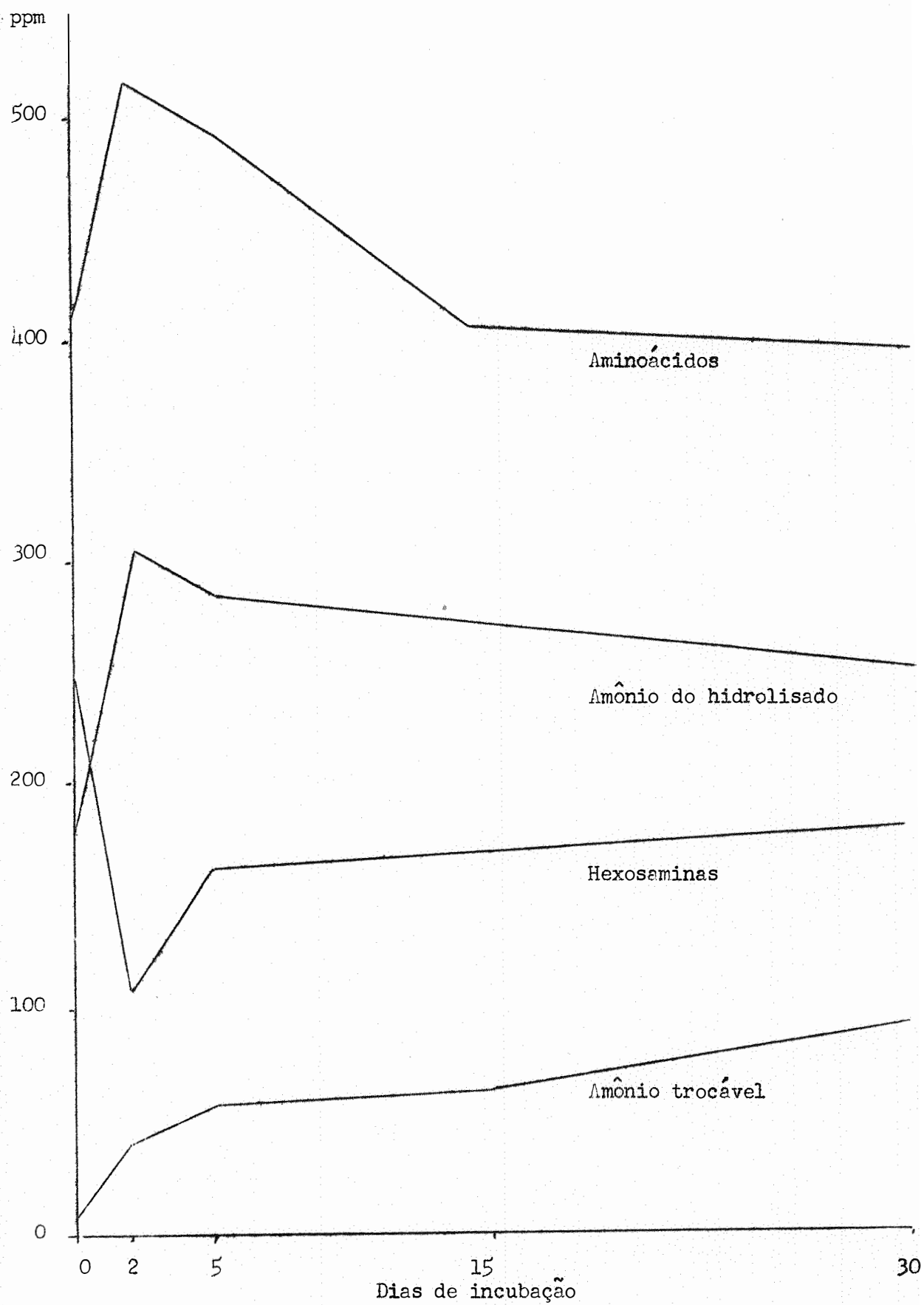


Fig. 4. Variação com o tempo de incubação das formas nitrogenadas analisadas do solo Lithic.

ao solo nas variações do conteúdo das formas estudadas. Para os amino-ácidos e o amônio do hidrolisado, aquela dá-se aos 2 dias de iniciada a incubação para, após, diminuir constantemente até o fim da experiência. O comportamento destas formas explica, provavelmente, o aumento menos brusco que experimenta o amônio trocável através dos períodos de incubação. As hexosaminas, como no caso anterior, sofrem uma diminuição inicial nos seus teores e logo, um aumento constante com o tempo. Em relação à contribuição do amônio adicionado nas transformações verificadas, os resultados diferem bastante dos encontrados no solo Eutrorthox. No solo Lithic, o aumento de nitrogênio marcado acompanha as variações no conteúdo que apresentam as formas analisadas. Porém, esta circunstância não está em desacôrdo com a possível explicação dada quando a participação do amônio adicionado nos processos em estudo foi discutida em relação ao solo Eutrorthox.

Na Tabela 9, apresentam-se os resultados obtidos quando se somam as contribuições parciais do amônio adicionado para as formas de nitrogênio estudadas.

Os valores assim encontrados, dão conta do destino de amônio adicionado. A quantidade do amônio adicionado, que não aparece nas formas estudadas, acredita-se que permanece, na fração não hidrolisável do nitrogênio do solo. As variações com o tempo observadas, fazem supor que o amônio adicionado, é relativamente móvel entre as frações hidrolisáveis e não hidrolisáveis.

Solo

| | Tempo de incubação em dias | | | |
|------------|----------------------------|---------|---------|---------|
| | 2 | 5 | 15 | 30 |
| Eutrorthox | 81 (34) | 28 (12) | 52 (22) | 81 (34) |
| Lithic | 67 (28) | 90 (38) | 81 (34) | 86 (36) |

Tabela 9. Recuperação, expressa em percentagem, do amônio adicionado nos diferentes tempos de incubação. Os números entre parênteses correspondem a ppm de N - $^{15}\text{NH}_4$.

O efeito da esterilização na imobilização e mineralização do amônio dos dois solos, apresentam-se nas Tabelas 10 e 11. Os dados dos valores correspondentes à contribuição do amônio adicionado, não são apresentados nas mesmas, devido a que foi constatado, nos resultados obtidos, a existência de contaminação de ^{15}N de uma amostra a outra. A contaminação é atribuível ao emprêgo do balão de Rittemberg numa amostra pouco enriquecida, após ser utilizado na análise de uma amostra muito enriquecida. --- BREMNER e EDWARDS (1965), chamaram a atenção em relação a problemas de contaminação cruzada (cross contamination) semelhantes encontrados na destilação de amostras enriquecidas no aparelho por êles descrito. Porém, na literatura não aparecem referências ao tipo exposto de contaminação.

O primeiro fato a salientar da observação dos dados das Tabelas 10 e 11, é que os processos pelos quais o nitrogênio do solo é incorporado e liberado das formas analisadas, efetuam-se ainda sem a participação da atividade microbiana. Esta afirmação está apoiada nos resultados obtidos na avaliação da eficiência da esterilização, realizada no Instituto Zimotécnico da ESALQ. As teorias que tentam explicar o fenômeno de retenção

| <u>Formas</u> | <u>Tempo de incubação em dias</u> | | | | |
|------------------------|-----------------------------------|-----|------|------|-----|
| | 0 | 2 | 5 | 15 | 30 |
| Amônio trocável | 15 | 40 | 55 | 48 | 47 |
| Amino-ácidos | 386 | 353 | 351 | 483 | 308 |
| Hexosaminas | 174 | 179 | 263 | 199 | 277 |
| Hidroxi-aminoácidos | 67 | 67 | 68 | 65 | 66 |
| Amônio do hidrolisado | 81 | 220 | 146 | 343 | 110 |
| N total do hidrolisado | 880 | 980 | 1006 | 1198 | 909 |

Tabela 10. Efeito de esterilização nos processos de imobilização e mineralização do amônio no solo Eutrorthox. Os dados são apresentados em ppm de N.

| <u>Formas</u> | <u>Tempo de incubação em dias</u> | | | | |
|------------------------|-----------------------------------|------|------|------|------|
| | 0 | 2 | 5 | 15 | 30 |
| Amônio trocável | 7 | 44 | 55 | 58 | 49 |
| Amino-ácidos | 407 | 463 | 363 | 377 | 394 |
| Hexosaminas | 258 | 175 | 189 | 168 | 191 |
| Hidroxi-aminoácidos | 79 | 94 | 81 | 107 | 98 |
| Amônio do hidrolisado | 174 | 269 | 211 | 270 | 220 |
| N total do hidrolisado | 1188 | 1299 | 1201 | 1221 | 1250 |

Tabela 11. Efeito da esterilização nos processos de imobilização e mineralização do amônio no solo Lithic. Os valores são apresentados em ppm de N.

não biológica do amônio no solo, já foram apresentadas no item 2.2, porém as mesmas não se apoiam nem nos métodos nem nas formas analisadas neste trabalho; por isso não é possível fazer considerações relacionadas com o mecanismo da incorporação e liberação do nitrogênio das formas orgânicas do solo.

Apesar disso, da comparação das Tabelas 7 e 10, 8 e 11, verifica-se que as formas mais sensíveis à esterilização são os aminoácidos e o amônio trocável, dado que as hexosaminas e o amônio do hidrolisado variam pouco, e, quando o fazem, o efeito de esterilização é geralmente estimulante.

As quantidades de aminoácidos e de amônio trocável parecem estar mais sujeitas à atividade microbiana que as outras formas. Esta dependência é mais evidente no amônio trocável no qual o conteúdo, praticamente, não varia com o tempo de incubação.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem sugerir que:

1) Possivelmente, em alguns solos, a presença em quantidades apreciáveis de amônio fixado, limita a validade dos resultados obtidos quando o nitrogênio total é avaliado pelos métodos clássicos.

2) O emprêgo da extração com KCl 1 ou 2N, provavelmente não seja um método adequado para a determinação da capacidade de fixação de amônio pela ineficácia em distinguir entre as vias pelas quais o amônio desaparece na solução. Seria mais apropriado supôr que o mesmo determina a capacidade de retenção do amônio adicionado ao solo. É de se considerar que êste termo é mais apropriado, porque nele, incluem-se os fenômenos de fixação, biológica ou não, e o de imobilização.

3) A capacidade do solo de fixar amônio, está melhor caracterizado com o emprêgo do método de SILVA e BREMNER (1966) e quando a solução utilizada para avaliá-la é enriquecida com ^{15}N .

4) O aumento no conteúdo de amônio trocável no solo, está relacionado com a diminuição nos teores de aminoácidos e de amônio do hidrolisado do solo. As hexosaminas aumentam com o tempo de incubação e os hidroxiaminoácidos parecem não participar nestas transformações.

5) O amônio adicionado que não aparece nas formas estudadas, pode ser considerado retido na fração não hidrolisável do solo. Porém, é prová-

vel que o mesmo seja relativamente móvel.

6) Os processos pelos quais o nitrogênio no solo é incorporado ou liberado das formas estudadas, continuam, em maior ou menor grau, quando a atividade microbiana é eliminada. As formas mais afetadas nos seus teores por esta situação, são os aminoácidos e o amônio trocável, as quais possivelmente, dependem mais dos processos biológicos do que das outras formas.

6. RESUMO

Com o fim de avaliar as formas de nitrogênio do solo e a maneira em que as mesmas participam dos processos de fixação, imobilização e mineralização do amônio no solo, dois solos do Município de Piracicaba foram incubados na presença de uma solução de sulfato de amônio enriquecida com ^{15}N , durante 0, 2, 5, 15, e 30 dias em condições anaeróbicas.

As formas analisadas para conteúdo de N e relação isotópica, foram: amônio trocável, amônio fixado, aminoácidos, hexosaminas, hidroxiaminoácidos, amônio do hidrolisado e nitrogênio total do hidrolisado.

A capacidade de fixação dos solos foi determinada com o emprêgo de dois métodos que determinam o amônio fixado por meio de extrações com KCl 2N, com e sem o auxílio de nitrogênio marcado, e através de um método que permite analisar o amônio fixado pela destruição das argilas e a liberação posterior do mesmo.

Os processos de imobilização e mineralização do amônio foram avaliados, após cada período de incubação, pela variação no conteúdo das formas mencionadas. O aumento, (imobilização), a diminuição (mineralização), das formas orgânicas estudadas, e as variações no conteúdo de amônio trocável, permitiram caracterizar os processos referidos.

O mesmo esquema de tratamentos e análise dos solos descrito,

foi seguido com amostras previamente esterilizadas com o fim de determinar a influência da eliminação da atividade microbiana dos solos nos processos de imobilização e mineralização do amônio no solo.

Os resultados obtidos permitem sugerir que:

1) Possivelmente, em alguns solos, a presença de quantidades -- apreciáveis de amônio fixado, limita a validade dos resultados obtidos --- quando o nitrogênio total é avaliado.

2) O método que emprega a extração com KCl 2N para determinar a capacidade de fixação do amônio adicionado, está sujeito a erros provocado pela interferência de outras frações do solo, na fixação de amônio.

3) O aumento no conteúdo de amônio trocável está relacionado -- com a diminuição dos aminoácidos e do amônio do hidrolisado dos solos. --

4) O amônio que não aparece no hidrolisado é retido, em forma - relativamente móvel, pela fração não hidrolisável.

5) Os processos de retenção e liberação do nitrogênio do solo - continuam em condições de atividade microbiana nula, sendo as formas mais afetadas, aminoácidos e amônio de hidrolisado.

7. SUMMARY

With the aim of evaluating the organic and inorganic forms of soil nitrogen and how they participate in the processes of fixation, immobilization and mineralization of ammonium in soils, samples of two soils from the Piracicaba County were incubated during 0, 2, 5, 15 and 30 days in contact with a solution of ammonium sulphate and under anaerobic conditions.

The nitrogen content and isotopic ratios in exchangeable ammonium, fixed ammonium, amino acids, hexosamines, hydroxyamino acids, hydrolyzable ammonium and total hydrolyzable nitrogen, were analyzed.

The ammonium fixing capacities of these soils were determined by two methods that estimate ammonium fixation through extractions with 2N KCl solutions, with or without the use of ^{15}N , and by a method that estimates fixed ammonium released by previous breakdown of clay minerals.

The processes of immobilization and mineralization of added ammonium were characterized at the end of each period of incubation through the increase, i.e. immobilization, or decrease, i.e. mineralization, of the nitrogen content in the organic forms and reflected in the variations observed in the exchangeable ammonium.

With the objective of determining the influence of the lack of microbial activity in the ammonium immobilization and mineralization processes,

the same soils, treatments and methods of analysis were used on previously sterilized samples.

The results obtained permit to suggest that:

- 1) The presence of high amounts of fixed ammonium in some soils, possibly invalidates the results obtained when these soils are analyzed for total nitrogen.
- 2) The method for determination of the ammonium fixing capacity based on the extraction with 2N KCl, is considered to be subject to interferences of other soil fractions capable of retaining ammonium.
- 3) The increase in exchangeable ammonium content is related to the decrease in amino acids and hydrolyzable ammonium.
- 4) The ammonium that fails to appear in the hydrolyzate is believed to be held in a rather mobile way, in the nonhydrolyzate fraction.
- 5) The immobilization and mineralization processes are still held under nil microbial activity. The forms more affected by this condition are amino acids and hydrolyzable ammonium.

8. LITERATURA CITADA

- ADAMS, R.S. e F.J. STEVENSON. 1964. Ammonium sorption and release from --- rocks and minerals. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 28: 345-351.
- ALLISON, F.E., J.H. DOETSCH e F.M. ROLLER. 1953a. Ammonium fixation and avail-
ability in vermiculite. Soil Sci. 75: 173-180.
- _____, E.M. ROLLER e J.H. DOETSCH. 1953b. Availability of fixed am-
monium in soils containing different clay minerals. Soil Sci. 75:
373-382.
- ARSHAD, M.A. e E.L. LOWE. 1966. Fractionation and characterization of nat-
urally occurring organo-clay complexes. Soil Sci. Soc. Amer. Proc.
30: 731-735.
- AXLEY, J.H. e J.O. LEGG. 1960. Ammonium fixation in soils and the influence
of K on N availability from nitrate and ammonium sources. Soil Sci.
90: 151-156.
- BARSHAD, I. 1951. Cation exchange in soils: I. Ammonium fixation and its
relation to potassium fixation and to determination of ammonium ex-
change capacity. Soil Sci. 72: 361-371.
- _____. 1954a. Cation exchange in micaceous minerals: II. Replaceabil-
ity of ammonium and potassium from vermiculite, biotite and montmo-
rillonite. Soil Sci. 78: 57-76.
- _____. 1954b. Cation exchange in micaceous minerals: I. Replaceability
of the interlayers cations of vermiculite with ammonium and potassium
ions. Soil Sci. 77: 463-472.
- BARTHOLOMEW, W.V., 1965. Mineralization and immobilization of nitrogen in
the decomposition of plants and animal residues. Em Bartholomew e
Clark (ed.) Soil Nitrogen. Agronomy 10: 287-308.
- BENNET, E. 1950. Fixation of ammonia by Lignin. Soil Sci. 68: 399-400.
- BLASCO, M.L. e A.H. CORNFIELD. 1966. Fixation of added NH_4 and nitrification
of fixed NH_4 in soil clays. Sci. Fd. Agric. 17: 481-484.
- BOWER, C.A. 1950a. Availability of ammonium fixed in difficulty exchangeable
form by soils of semiarid regions. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 15:
119-122.

- BOWER, C.A. 1950b. Fixation of ammonium in difficult exchangeable form --- under moist conditions by some soils of semiarid regions. Soil Sci. 70: 375-384.
- BREMNER, J.M. 1959. Determination of fixed ammonium in soils. J. Agric. Sci. 52: 147-160.
- _____. 1965. Inorganic forms of nitrogen. Em C.B. Black et al. (eds.) Methods of Soil Analysis. Agron. 9: 1179-1237.
- _____. 1965b. Organic forms of nitrogen. Em C.B. Black (ed.) Methods of Soil Analysis, Parte 2. Agronomy 9: 1238-1255.
- _____. 1965c. Isotope-ratio analysis of nitrogen in nitrogen - 15 tracer investigations. Em C.A. Black et al. (eds.) Methods of Soil Analysis, Parte 2. Agronomy 9: 1256-1286.
- _____. 1967. Nitrogenous compounds. Em A.D. McLaren e G.H. Peterson (eds.) Soil Biochemistry, Marcel Dekker Inc. N.Y., pg. 19-66.
- _____ e A.P. EDWARDS. 1965. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of N in soils: 1. Apparatus and procedure for destilation and determination of ammonium. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 29: 504-507.
- _____ e D.R. KEENEY. 1966. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of N in soils: 3. Exchangeable NH_4^+ , NO_3^- and NO_2^- by extraction-destilation methods. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 30: 577-582.
- _____, D.W. NELSON e J.A. SILVA. 1967. Comparison of evaluation of methods of determining fixed ammonium in soils. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 31: 466-472.
- BROADBENT, F.E. 1965. Effect of fertilizer nitrogen on the release of soil nitrogen. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 29: 692-695.
- _____. 1968. Nitrogen immobilization in relation to N - containing fractions of soil organic matter. Em Isotopes and radiation in soil organic matter studies. Proceeding of a Symposium. IAEA-FAO, Vienna.
- _____, W.D. BURGE e T. NAKASHIMA. 1960. Factors influencing the reaction between ammonia and soil organic matter. 7th. Intern. --- Congress of S. Science. Mad. Wisc. U.S.A. III: 509-516.
- _____ e M.W. THENABADU. 1967. Extraction of ammonia fixed by soil organic matter. Soil Sci. 104: 283-288.

- BROADBENT, F.E. e K.B. TYLER. 1962. Laboratory and greenhouse investigations of nitrogen immobilization. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 26: 459-462.
- BURGE, W.D. e F.E. BROADBENT. 1961. Fixation of ammonia by organic soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 25: 199-204.
- CATANI, R.A., J.R. GALLO e H. GARGANTINI. 1955. Amostragem de Solo. Métodos de análise. Interpretação e indicações gerais para fins de fertilidade. I.A.C. São Paulo, Brasil.
- CHENG, H.H., J.M. BREMNER e A.P. EDWARDS. 1964. Variations of N¹⁵ abundance in soils. *Science* 146: 1574-1575.
- _____ e L.T. KURTZ. 1963. Chemical distribution of added nitrogen in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 27: 312-316.
- CHU, J.P.H. e R. KNOWLES. 1966. Mineralization and immobilization of nitrogen in bacterial cells and in certain soil organic fractions. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 30: 210-213.
- COMISSÃO DE SOLOS. 1960. Levantamento de reconhecimento dos solos do Estado de São Paulo. Boletim No. 2. Rio de Janeiro, Brasil.
- DHARIWAL, A.P.S. e F.J. STEVENSON. 1958. Determination of fixed ammonium in soils. *Soil Sci.* 86: 343-349.
- ESCOBAR, E.H. 1969. Gênese e classificação de alguns solos da bacia do Ribeirão Tijuco Prêto - Município de Rio das Pedras. Tese de M.S., E.S.A.L.Q., Piracicaba, São Paulo, Brasil.
- FRENEY, J.R. 1964. An evaluation of naturally occurring fixed ammonium in soils. *J. Agric. Sci.* 63: 297-303.
- _____. 1968. The extraction of organic nitrogen from soil by boiling acids. Em 9th Int. Congress of Soil Sci., Adelaide, Australia III: 531-540.
- GUPTA, U.C. e H.W. REUSZER. 1967. Effect of plant species on the amino acid content and nitrification of soil organic matter. *Soil Sci.* 104: 395-400.
- HANWAY, J.J. e A.D. SCOTT. 1956. Ammonium fixation and release in certain Iowa soils. *Soil Sci.* 82: 379-386.
- HARMSSEN, G.W. e G.J. KOLENBRADER, 1965. Soil inorganic nitrogen. Em W. Bartholomew e F. Clark (eds.) *Soil Nitrogen*. Agronomy 10. Madison Wis.

- HARMSSEN, G.W. e D.A. VAN SCHREVEN. 1965. Mineralization of organic nitrogen in soil. *Advances in Agronomy* 7: 299-398.
- HINMAN, W.C. 1966. Ammonium fixation in relation to exchangeable K and organic matter content in two soils. *Canad. J. Soil Sci.* 46: 223-225.
- HIROSE, S., M. YAMADA e K. KUMADA. 1967. Immobilization of ammonium N and its remineralization in the soil under field conditions. I. N economy in paddy soils. *J. Sci. Soil Manure, Tokyo* 38: 11-15.
- JANSSON, 1958. Tracer studies on nitrogen with special attention to mineralization and immobilization relationships. *Kungl. Lantbrukshögsh. Ann.* 24: 101-361.
- KAILA, A. 1966. Fixed ammonium in some Finnish soils. *J. Scient. Agric. Soc. Finl.* 38: 49-58. *Soil and Fertilizers* 29 (2983).
- KEENEY, D.R. e J.M. BREMNER. 1966. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of N in soils: 4. Exchangeable NH_4^+ , NO_3^- and NO_2^- by direct distillation methods. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 30: 583-587.
- KEENEY, D.R. e J. M. BREMNER. 1967. Characterization of Mineralizable N in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 30: 714-719.
- KETCHESON J.W. e M. JAKOVLJEVIC. 1968. Transformation of NO_3^- and NH_4^+ in soils. Isotopes and radiation in soil organic matter studies. Proceedings of a Symposium IAEA-FAO, Vienna, pg. 125-130.
- LEGG, J.O. e F.E. ALLISON. 1959, Recovery of tagged N^{15} nitrogen from ammonium-fixing soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 23: 131-134.
- LEGG, G.E. e C.D. MOODIE. 1962. The aeration-recovery method for determining ammonium fixation by soils under moist conditions. *Soil Sci., Soc. Amer. Proc.* 26: 160-163.
- _____ e _____. 1963. The release of fixed NH_4^+ from soils by Na as affected by small amounts of K and NH_4 . *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 27: 645-648.
- MARTIN, A.E. e P.J. ROSS, 1968. Significance of errors in N^{15} measurements in soil: plant research. Em 9th Int. Congress of Soil Sci. Transactions. Adelaide, Australia III: 521-530.

- MEGUŠAR, F. 1968. The depressing effect on mineralization caused by the addition of mineral nitrogen to soil. Em Isotopes and radiation in soil organic matter studies. Proceedings Series. Int. Atomic Energy Agency, Vienna.
- MIKAMI, D.T. e Y, KANEHIRO. 1968. Native fixed ammonium in Hawaiian soils. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 32: 481-485.
- MOGILEVKINA, I.A. 1964. Fixation of ammonium in the soil and method of determining it. Soviet Soil Sci. 2: 185-196.
- _____. 1969. Comparison of methods of determining fixed ammonium in soils. Soviet Soil Sci. 2: 106-112.
- MORTIAND, M.M. 1958. Reactions of ammonia in Soils Adv. in Agron. X: 325-349.
- _____ e A.R. WOLCOTT. 1965. Sorption of inorganic N compounds by soil minerals. Em M.V. Bartholomew e F.E. Clark (eds.) Soil Nitrogen. Agronomy 10: 150-197.
- NEWMAN, A.C.D. e S. OLIVER. 1966. Isotopic exchange of fixed ammonium. J. Soil Sci. 17: 158-174.
- NOMMIK, H. 1957. Fixation and defixation of ammonium in soils. Acta. Agric. Scand. 7: 395-346.
- _____. 1965. Ammonium fixation and other reactions involving a nonenzymatic immobilization of mineral N in soil. Em W.V. Bartholomew e F.E. Clark (eds.) Soil Nitrogen Agronomy 10: 198-258.
- _____. 1966. Particle-size effect on the rate of nitrification of N fertilizer materials, with special reference to NH₄ fixing soils. Plant and Soil 24: 181-200.
- _____ e K.O. NILSSON. 1963. Fixation of ammonia by the organic fraction of the soil. Acta. Agric. Scand. 13: 371-390.
- OLSON, R.A., M.W. MEYER, W.E. LAMKE, A.D. WOLTEMPH e R.F. WEISS. 1960. Nitrate production rate as a soil test for estimating fertilizer nitrogen requirements of cereal crops. Em 7th Int. Congress of Soil Science, Madison, Wis. III: 463-470.
- PAGE, J.B. e L.D. BAVER. 1940. Ionic size in relation to fixation of cations by colloidal clay. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 4: 150-155.

- PAUL, E.A. e E.L. SCHIMDT. 1960. Extraction of free amino acids from soil. I. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 24: 195-198.
- _____ e _____. 1961. Formation of free aminoacids in rhizosphere nonrhizosphere soil. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 25: 359-361.
- PETERBURGSKY, A.V. e P.M. SMIRNOV. 1966. Ammonium fixation in some soils of the U.S.S.R. and the availability of this ion to plants. Plant and Soil 25: 119-128.
- RANZANI, G., O. FREIRE e T. KINJO, 1966. Carta de solos do Municipio de Piracicaba, Centro de Estudos de Solo. ESALQ - U.S.P., Piracicaba, S.P., Brasil.
- REID, A.S. G.R. WEBSTER e H.R. KROUSE, 1969. Nitrogen movement and transformation in soils. Plant and Soil 31: 224-237.
- RICH, C.I e J.A. LUTZ. 1965. Mineralogical changes associated with ammonium and potassium fixation in clay soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 29: 167-170.
- RITTENBERG, D. 1946. The preparation of gas samples for mass spectrographic isotope analysis. Em Preparation and measurement of isotopic tracers. Ed. Ann. Arbor. Michigan, U.S.A. 31-42.
- RODRIGUEZ, G. 1954. Fixed ammonia in tropical soils. J. Soil Sci. 5: 264-274.
- SAYEGH, A.H. e H. REHMAN, 1969. Ammonium fixation in alkaline Libanese soils. Soil Sci. 108: 202-208.
- SHCHERBAKOVA, E. 1968. The synthesis of some amino acids in the soil. Em Isotopes and radiation in soil organic matter studies. Int. At. En. Agency, Vianna.
- SHILOVA, Y.I. 1969. Availability to plants of nitrogen fixed in the soil under field conditions. Soviet Soil Sci. 1: 48-55.
- SILVA, J.A. e J.M. BREMNER. 1966. Determination and Isotope-ratio analysis of different forms of N in soils: 5. Fixed ammonium. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 30: 587-594.
- SMITH, J.H., J.O. LEGG, e J.N. CARTER. 1963. Equipment and procedures for N¹⁵ analysis fo soil and plant material with the mass spectrometer. Soil Sci. 96: 313-318.

- SOHN, J.B. e M. PEECH. 1958. Retention and fixation of ammonia in soils. Soil Sci. 85: 1-9.
- SOIL SCIENCE SOCIETY OF AMERICA, COMMITTEE ON TERMINOLOGY. 1965. Glossary of soil science terms. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 29: 330-351.
- SOWDEN, F.J. 1958. The forms of nitrogen in the organic matter of different horizons of soil profiles. Canad. J. Soil Sci. 38: 147-154.
- STANFORD, G. e J.J. HANWAY. 1955. Predicting nitrogen fertilizer needs of Iowa soils: II. A simplified technique for determining relative nitrate production in soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 19: 74-77.
- STEVENSON, F.J. 1957. Investigations of aminopolysaccharides in soils: 2. Distribution of hexosamines in some soil profiles. Soil Sci. 84: 99-106.
- _____ 1959. Carbon-nitrogen relationships in soil. Soil Sci. 88: 201-208.
- _____. 1960. Chemical nature of the N in the fulvic fraction of soil organic matter. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 24: 472-477.
- _____ e A.P.S. DHARWAL. 1959. Distribution of fixed ammonium in soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 23: 121-125.
- STEWART, B.A. e L.K. PORTER. 1963. Inability of the Kjeldahl method to fully measure indigenous fixed ammonium in some soils. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 27: 41-43.
- _____, L.K. PORTER e D.D. JOHNSON. 1963. Immobilization and mineralization of N in several organic fractions of soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 27: 302-304.
- VAN SCHREVEN, D.A. 1968. Ammonium fixation and availability of fixed ammonium in some Dutch loam and clay soils. Meth. J. Agric. Sci. 16: 91-102.
- WAGNER, G.H. e V.K. MUTATKAR. 1968. Amino components of soil organic matter formed during humification of C¹⁴ glucose. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 32: 683-686.
- WALSH, L.M. e J.T. MURDOCK. 1960. Native fixed NH₄⁺ and fixation of applied NH₄ in several Wisconsin soils. Soil Sci. 89: 183-193.

- WALSH, L.M. e J.T. MURDOCK. 1963. Recovery of fixed NH_4^+ by corn in greenhouse studies. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 27: 200-204.
- WARING, S.A. e J.M. BREMNER. 1964. Effect of soil mesh-size on the estimation of mineralizable nitrogen in soils. Nature 202: 1144.
- YOUNG, J.L. 1962. Inorganic soil nitrogen and carbon: nitrogen ratios of some Pacific Northwest soils. Soil Sci. 93: 397-404
- _____. 1964. Ammonia and ammonium reactions with some Pacific Northwest soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 28: 339-345.
- _____ e R.A. CATTANI. 1962. Mineral fixation of anhydrous NH_3 by air-dry soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 26: 147-152.
- _____ e B.L. McNEAL. 1964. Ammonia and ammonium reactions with some layer-silicate minerals. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 28: 334-339.