**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Nitrogênio e enxofre para gramínea forrageira: atributos do solo e
aspectos metabólicos, nutricionais e produtivos da planta**

Fabiano Daniel De Bona

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Agronomia. Área de concentração: Solos e
Nutrição de Plantas**

Piracicaba

2008

Fabiano Daniel De Bona
Engenheiro Agrônomo

Nitrogênio e enxofre para gramínea forrageira: atributos do solo e aspectos metabólicos, nutricionais e produtivos da planta

Orientador:
Prof. Dr. FRANCISCO ANTONIO MONTEIRO

**Tese apresentada para a obtenção do título de
Doutor em Agronomia. Área de concentração: Solos
e Nutrição de Plantas**

Piracicaba
2008

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

De Bona, Fabiano Daniel

Nitrogênio e enxofre para gramínea forrageira: atributos do solo e aspectos metabólicos, nutricionais e produtivos da planta / Fabiano Daniel De Bona. - - Piracicaba, 2008.
124 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.
Bibliografia.

1. Enxofre 2. Fertilidade do solo 3. Gramíneas forrageiras 4. Metabolismo vegetal 5. Nitrogênio 6. Nutrição vegetal 7. Produção vegetal I. Título

CDD 633.2
D287n

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

Aos meus pais ***Luiz e Nelci***,

por compreenderem apesar do sofrimento a minha ausência, por compartilharem meus sonhos, por serem meu incansável “porto seguro” e por terem, na sua humildade, moldado as bases de personalidade e caráter em que apoio minha vida.

À ***Fabiana***,

pelo amor, carinho e incentivo, pela alegria de viver e por acreditar, junto comigo, que distância e tempo são irrelevantes quando se olha e segue rumo ao mesmo horizonte.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me agraciado com a vida, pelas oportunidades, alegrias e saúde, e nos momentos de fraqueza e desânimo por ter me amparado e dado forças para retomar a caminhada.

Ao Prof. Dr. Francisco Antonio Monteiro, pela excelente orientação, paciência, confiança e sincera amizade, pelos conhecimentos transmitidos e pelo exemplo profissional de competência e honestidade.

Ao Prof. Dr. Nicolaus von Wirén, pela amizade e acolhida em seu grupo de pesquisa no Instituto de Nutrição de Plantas da Universidade de Hohenheim (Stuttgart – Alemanha) durante o Doutorado-Sanduíche, pelas facilidades disponibilizadas para pesquisa e pelos ensinamentos.

Aos Profs. Dr. Reimar Carlesso (UFSC), Dr. Cimélio Bayer (UFRGS), Dr. Nicolaus von Wirén (Universität Hohenheim) e Dr. Francisco Antonio Monteiro (ESALQ-USP), por orientarem os rumos da minha formação profissional e constituírem os pilares-mestres do meu conhecimento científico e agrônomo.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo e ao Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas representado pelos seus mestres, pela acolhida durante o período de doutoramento e pela formação acadêmica.

Aos estagiários e amigos Alexandre G. R. Braga, Arlete S. Barneze, Carolina A. W. Andrade, Carolina Scalise, Dayana L. dos Santos, Luiz Palermo, Mariana P. C. Gallo, Marina M. F. de Pauli, Rafael R. Monteiro, Renata Kairof, Rodrigo S. Fernandes, Soraya D. Pires, Pedro V. F. Machado e Thaís F. Liberali, pela inestimável ajuda na execução de etapas do trabalho, pelo companheirismo e pela amizade.

Às funcionárias do laboratório de Nutrição Mineral de Plantas da ESALQ-USP Ednéia C. S. Mondoni, Lúcia H. S. P. Forti, Lurdes A. D. de Gonzáles, Nivanda M. de Moura e Sueli M. A. C. Bovi, pelo auxílio nas atividades laboratoriais e pela convivência. Agradecimento especial à laboratorista Nivanda M. de Moura, pela expressiva colaboração no fracionamento do enxofre do solo.

Aos colegas, amigos e “irmãos” do passado e presente da pós-graduação na ESALQ-USP Adilson de Oliveira Júnior, Adriana G. Artur, Adna V. Dutra, Cristiane P. Silveira, Daniel Manfredini, Daniela A. Oliveira, Dilmar Baretta, Dylnei Consolmagno Neto, Edna M. Bonfim-Silva, Elisângela Dupas, Eloise M. Viana, Fernando J. Garbuio, Flávio A. Marques, Gabriel Barth, Gilberto Nava, Haroldo C. Hoogerheide, Jackson L. Lange, José O. de Souza Júnior, Karina Batista, Magnus D. Deon, Mara L. J. Oliveira, Marcio M. Megda, Pablo J. Ghiberto, Roberta C. Nogueirol, Simeire A. Manarim, Suzana P. de Melo e Tiago B. Garcez, pela amizade e partilha do conhecimento.

Ao colega da Universidade de Hohenheim M.Sc. Dmitry Fedoseyenko, pelo auxílio na determinação de aminoácidos em extrato de plantas.

À minha família brasileira na Alemanha composta por Ana Eisermann, Anderson R. Meda, Adriana G. C. Meda, Joni E. Lima, Lília C. Carvalhais e Ricardo F. H. Giehl, pela companhia e amizade que abrandaram a saudade do nosso país.

Aos amigos de moradia em Piracicaba Gregori da E. Ferrão, José O. de Souza Júnior e Mauro S. O. Leite, pelas conversas, conselhos e pela convivência fraternal.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa e pelo apoio financeiro para execução do projeto.

Ao Serviço Alemão de Intercâmbio Acadêmico (Deutscher Akademischer Austausch Dienst – DAAD) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro durante período de Doutorado-Sanduiche na Alemanha.

E a todos que colaboraram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

***“Não é o mais forte que sobrevive, nem o mais inteligente,
mas o que melhor se adapta às mudanças.”***

Charles Darwin (1809-1882), naturalista britânico

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 Pastagens na agropecuária brasileira	13
2.1.1 Importância	13
2.1.2 Caracterização das pastagens de <i>Brachiaria</i>	13
2.1.3 Degradação de áreas de pastagens de <i>Brachiaria</i>	14
2.1.4 Recuperação de áreas de pastagens de <i>Brachiaria</i>	15
2.2 Nitrogênio e enxofre na produção de gramíneas forrageiras	16
2.3 Nitrogênio e enxofre no solo	18
2.3.1 Disponibilidade de nitrogênio e de enxofre no solo	18
2.3.2 Frações de nitrogênio no solo	18
2.3.3 Frações de enxofre no solo	19
2.4 Nitrogênio e enxofre nas plantas	21
2.4.1 Metabolismo e funções do nitrogênio nas plantas	21
2.4.2 Metabolismo e funções do enxofre nas plantas	22
2.4.3 Interações nitrogênio x enxofre no metabolismo das plantas	23
Referências	24
3 NITROGÊNIO E ENXOFRE NA ADUBAÇÃO PARA SUBSTITUIÇÃO DE CAPIM-BRAQUIÁRIA EM DEGRADAÇÃO PELO CAPIM-MARANDU: ASPECTOS PRODUTIVOS, ESTADO NUTRICIONAL DA PLANTA E FERTILIDADE DO SOLO	32
Resumo	32
Abstract	32
3.1 Introdução	33
3.2 Material e métodos	35
3.3 Resultados e discussão	38
3.4 Conclusões	50
Referências	51

4 NITROGÊNIO E ENXOFRE NA EFICIÊNCIA DO USO DA ÁGUA PELO CAPIM-MARANDU EM ESTABELECIMENTO	56
Resumo	56
Abstract	56
4.1 Introdução	57
4.2 Material e métodos	59
4.3 Resultados e discussão	61
4.4 Conclusões	66
Referências	66
5 DINÂMICA DAS FRAÇÕES ORGÂNICA E MINERAL DE NITROGÊNIO E DE ENXOFRE NO SOLO COM CAPIM-MARANDU EM ESTABELECIMENTO SOB ADUBAÇÕES NITROGENADA E SULFATADA	68
Resumo	68
Abstract	68
5.1 Introdução	69
5.2 Material e métodos	72
5.3 Resultados e discussão	76
5.4 Conclusões	93
Referências	93
6 ALTERAÇÕES NA FISIOLOGIA E NO METABOLISMO DE GRAMÍNEA DEVIDO ÀS FORMAS DE NITROGÊNIO E DOSES DE ENXOFRE	99
Resumo	99
Abstract	99
6.1 Introdução	100
6.2 Material e métodos	102
6.3 Resultados e discussão	108
6.4 Conclusões	118
Referências	118
7 CONCLUSÕES GERAIS	123

RESUMO

Nitrogênio e enxofre para gramínea forrageira: atributos do solo e aspectos metabólicos, nutricionais e produtivos da planta

A disponibilidade dos nutrientes nitrogênio e enxofre no solo pode alterar o desenvolvimento das plantas com reflexos diretos na produção vegetal. Objetivou-se: a) estudar doses de nitrogênio e doses de enxofre na produção da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (capim-Marandu) em implantação em solo de pastagem com *Brachiaria decumbens* (capim-Braquiária) em degradação, e avaliar as alterações nas concentrações desses elementos no tecido vegetal e no solo promovidas por essa adubação; b) avaliar a eficiência do uso da água pelo capim-Marandu em estabelecimento adubado com nitrogênio e enxofre; c) avaliar o efeito de nitrogênio e de enxofre na adubação do capim-Marandu na extração desses elementos do solo, na matéria orgânica, no pH e nas frações mineral e orgânica de nitrogênio e de enxofre do solo; e d) avaliar alterações na fisiologia e no metabolismo de gramínea que afetam a produção da planta, em virtude da adubação combinada de formas de nitrogênio e doses de enxofre. Plantas de capim-Marandu foram cultivadas em casa de vegetação em solo classificado como Neossolo Quartzarênico, no período de janeiro a maio de 2006 (três períodos de crescimento). Estudaram-se cinco doses de nitrogênio (0; 100; 200; 300 e 400 mg dm⁻³) combinadas com cinco doses de enxofre (0; 10; 20; 30 e 40 mg dm⁻³), em um fatorial 5² fracionado. Utilizando-se a planta-modelo *Hordeum vulgare* (cevada) testaram-se formas de nitrogênio e doses de enxofre na fisiologia e metabolismo de gramínea, em experimentos com solo e solução nutritiva. A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre na adubação foi significativa para área foliar total, número de perfilhos, massa seca da parte aérea, concentração de nitrogênio e relação N:S na planta e teores de nitrogênio total e enxofre-sulfato do solo em pelo menos um dos três ciclos de crescimento do capim-Marandu. O uso de nitrogênio e de enxofre na adubação na relação N:S média de 10:1 aumentou a eficiência do uso da água e maximizou a produção de massa seca, com concentrações de nitrogênio e de enxofre ótimas para o metabolismo da planta e produção de forragem, bem como manteve e/ou incrementou a fertilidade do solo em relação aos referidos nutrientes. Altas doses de nitrogênio combinadas com baixas doses de enxofre na adubação diminuíram expressivamente o nitrogênio absorvido pelas plantas. Os teores de nitrogênio total e das formas nítrica e amoniacal do solo variaram em função do nitrogênio adicionado via adubação e da remoção pelas plantas. O cultivo do capim-Marandu associado à adubação sulfatada incrementou a fração enxofre-éster do solo. O enxofre orgânico residual do solo mostrou-se como potencial fonte de enxofre na nutrição da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. O fornecimento de nitrogênio na forma de nitrato aumentou os efeitos deletérios da limitação de enxofre para a cevada, por diminuir a atividade da enzima redutase do nitrato e aumentar a concentração de nitrato e de aminoácidos livres no tecido vegetal, principalmente de asparagina e glicina.

Palavras-chave: Adubação; *Brachiaria brizantha*; Eficiência do uso da água; Frações de enxofre do solo; Metabolismo de gramínea; Produção; Relação N:S

ABSTRACT

Nitrogen and sulphur for graminaceous forage plants: soil attributes and metabolic, nutritional and productive aspects of plants

The nitrogen and sulphur availability in soil might influence plant growth, affecting the vegetal production. The objectives of this work were: a) to assess fertilization with nitrogen and sulphur rates on yield of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (Marandu palisadegrass) under establishment in a soil supporting degrading pasture of *Brachiaria decumbens* (Signal grass); b) to evaluate the water use efficiency by *Brachiaria brizantha* cv. Marandu under establishment and fertilized with nitrogen and sulphur rates; c) to study nitrogen and sulphur rates on *Brachiaria brizantha* cv. Marandu as affecting the uptake of these elements, soil organic matter, soil pH and soil organic and mineral fractions of nitrogen and sulphur; and d) to evaluate changes in the physiology and metabolism of graminaceous plant linked to yield, and influenced by fertilization with forms of nitrogen and sulphur rates. Marandu palisadegrass plants were grown in a greenhouse with an Entisol, from January to May 2006 (three growth periods). Five rates of nitrogen (0; 100; 200; 300 and 400 mg dm⁻³) and five rates of sulphur (0; 10; 20; 30 and 40 mg dm⁻³) were studied in a 5² fractionated factorial. The influence of nitrogen forms and sulphur rates on physiology and metabolism of graminaceous plant was tested using the model plant *Hordeum vulgare* (barley) grown in soil and in nutrient solution. The interaction nitrogen rates x sulphur rates was significant on leaf area, tiller number, above-ground dry matter, nitrogen concentration and N:S ratio in plants, and on total nitrogen and sulfate-sulphur in the soil in at least one of the three growths of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Nitrogen and sulphur ratio in the fertilizer rate about 10:1 increased the water use efficiency by plants and promoted high yield, with adequate nitrogen and sulphur concentration for plant metabolism and forage production, as well as kept and/or raised the soil fertility attributes related to these nutrients. High nitrogen rates in the fertilization without sulphur supply decreased plant nitrogen uptake from the soil. Total nitrogen, nitrate and ammonium concentrations in the soil were affected by nitrogen supply and plant uptake. Growth of Marandu palisadegrass associated with sulphur supply increased the ester-bonded sulphur fraction in the soil. The soil residual-sulphur fraction can be considered a sulphur potential source for Marandu palisadegrass mineral nutrition. Sulphur deficient barley plants grown with nitrate as nitrogen source showed low nitrate reductase activity, high nitrate and free amino acids concentration, specially asparagine and glycine.

Keywords: *Brachiaria brizantha*; Graminaceous plants metabolism; Fertilization; N:S ratio; Soil sulphur fractions; Water use efficiency; Yield

1 INTRODUÇÃO

A atividade pecuária brasileira foi desenvolvida e se mantém com base na criação de animais se alimentando em pastagens. Extensas áreas de pastagens cobrem grande parte do Brasil, estendendo-se desde os campos nativos do pampa brasileiro até as vastas áreas de pastagens cultivadas nos Cerrados e na região amazônica. Nas pastagens cultivadas, as gramíneas tropicais do gênero *Brachiaria* dominam o cenário atual, pela sua rusticidade e adaptabilidade às variadas condições de clima e solo, além do potencial de produção de forragem para consumo animal.

Após décadas de exploração dos pastos de *Brachiaria*, em particular da *Brachiaria decumbens*, os pecuaristas se deparam atualmente com crescimento de áreas ocupadas por essa gramínea que estão degradadas ou em processo de degradação. As principais causas dessa degradação estão relacionadas à exaustão da fertilidade natural do solo pela falta de reposição dos nutrientes extraídos pela planta e removidos pelo animal no pastejo e/ou ao mau manejo animal da pastagem.

Visando solucionar o problema da degradação da pastagem de *Brachiaria*, muitos produtores optam por substituir a espécie de *Brachiaria* na reforma do pasto. No entanto, na maioria das vezes a nova espécie é mais exigente em termos de nutrição, de modo que, se essa prática não for acompanhada da reconstituição da fertilidade do solo, a implantação satisfatória da nova pastagem não é alcançada.

Nesse contexto, pesquisas demonstram que o uso de fertilizantes contendo nitrogênio e enxofre são eficientes tanto na recuperação de pastagens de *Brachiaria* por adubação, bem como quando usadas na implantação de nova espécie na renovação do pasto. Além do nitrogênio ser extraído em grande quantidade por essas plantas forrageiras, ambos os nutrientes são interligados por rotas bioquímicas na planta, o que explica a resposta positiva na produção da planta mediante a adição concomitante desses dois nutrientes. Entretanto, características intrínsecas da planta e propriedades químicas, físicas e biológicas do solo interagem com os nutrientes nitrogênio e enxofre aplicados na adubação, afetando sua dinâmica no sistema solo-planta, o que, por sua vez, determina os efeitos de resposta na produção da gramínea. Assim, de acordo com o tipo de solo e espécie de gramínea, proporções ideais de nitrogênio e de enxofre são

requeridas para maximizar o efeito dessa prática na implantação de nova espécie de planta forrageira.

Considerando a dinâmica dos nutrientes nitrogênio e enxofre no solo, deve-se levar em conta o papel fundamental da matéria orgânica. Esse compartimento do solo engloba as frações orgânicas dos elementos nitrogênio e enxofre, cujas inter e intra-relações mediadas por microrganismos mantém o equilíbrio com as frações minerais da solução do solo, as quais constituem a fração prontamente disponível desses nutrientes para absorção pelas raízes das plantas. O emprego de nitrogênio e de enxofre na adubação pode afetar a dinâmica das frações desses elementos no solo, o que origina novo estado de equilíbrio dependente das proporções de nitrogênio e de enxofre supridos, que pode alterar a disponibilidade desses nutrientes à planta.

Adicionalmente às proporções ideais de nitrogênio e de enxofre na adubação para adequado crescimento e desenvolvimento vegetal, deve-se considerar ainda as formas desses nutrientes fornecidas à planta no fertilizante. Pesquisas indicam que a morfogênese, o metabolismo e conseqüentemente a produção das plantas podem ser alterados devido à forma do nitrogênio disponibilizado à planta.

Visando contribuir no entendimento das interações nitrogênio x enxofre no metabolismo e na produção das gramíneas, bem como nos processos que ocorrem no solo, desenvolveu-se o presente trabalho com os objetivos de: a) estudar combinações de doses de nitrogênio e doses de enxofre na produção da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (capim-Marandu) recém-implantada em solo oriundo de área vegetada com *Brachiaria decumbens* (capim-Braquiária) em degradação, e avaliar as alterações nas concentrações desses elementos no tecido vegetal e no solo promovidas por essa adubação; b) avaliar a eficiência do uso da água pelo capim-Marandu em estabelecimento adubado com nitrogênio e enxofre; c) avaliar o efeito de combinações de doses de nitrogênio e de enxofre na adubação do capim-Marandu na extração desses elementos do solo, na matéria orgânica, no pH e nas frações mineral e orgânica de nitrogênio e de enxofre do solo; e d) avaliar alterações na fisiologia e no metabolismo de gramínea que afetam a produção da planta, em virtude da adubação combinada de formas de nitrogênio e doses de enxofre.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Pastagens na agropecuária brasileira

2.1.1 Importância

As pastagens naturais ou cultivadas constituem a principal fonte de alimentação do rebanho bovino brasileiro. A produção advinda desse rebanho tem destacado o Brasil entre os maiores produtores e exportadores de carne bovina do mundo (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE - ABIEC, 2008). Segundo as estatísticas do censo agropecuário 2006 (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2006), o Brasil possui aproximadamente 172 milhões de hectares de terras ocupadas por pastagens, que respondem pela alimentação de cerca de 170 milhões de cabeças de gado bovino. Do total de pastagens no Brasil, aproximadamente 55 % são cultivadas, predominando nessa parte os capins do gênero *Brachiaria* (FERRAZ, 2003), os quais são amplamente disseminados pelo território nacional devido à sua grande adaptabilidade às variadas características de clima e solo (KELLER-GREIN; MAASS; HANSON, 1996).

2.1.2 Caracterização das pastagens de *Brachiaria*

As pastagens formadas por plantas do gênero *Brachiaria* caracterizam-se pelo expressivo potencial de produção de massa seca e extração de nutrientes do solo. O metabolismo fisiológico C4 confere a essas plantas alta eficiência no uso da radiação solar e elementos essenciais do solo e água (TAIZ; ZEIGER, 2004). Diversas espécies e variedades de *Brachiaria* são utilizadas para compor os pastos (RENVOIZE; CLAYTON; KABUYE, 1996), as quais diferem em relação às exigências nutricionais, resistência a pragas, tolerância à acidez do solo, aproveitamento de água, adaptação ao manejo e produção de forragem. Dentre as espécies mais difundidas no Brasil estão a *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (MITIDIERI, 2003), sendo a primeira menos exigente em termos de fertilidade do solo do que a segunda (WERNER et al., 1996).

De maneira geral, a rusticidade natural das plantas de *Brachiaria* aliada à eficiência do mecanismo fisiológico C4 sustentam por algum período de tempo a produção dessas gramíneas sem a necessidade de grandes investimentos com manejo e adubação do solo pelo pecuarista. No entanto, a retórica de que as plantas de *Brachiaria* mantinham a produtividade naturalmente contribuiu para a permanência de boa parte da atividade pecuária brasileira como sistema extrativista. As consequências desse sistema exploratório culminaram no aparecimento de cada vez mais áreas de pastagens degradadas ou sob degradação no Brasil (DIAS-FILHO, 2005).

2.1.3 Degradação de áreas de pastagens de *Brachiaria*

De acordo com Dias-Filho (2005), a degradação das pastagens é caracterizada pela perda da capacidade produtiva de material vegetal pela planta em consequência da degradação do solo, cujas causas podem ser químicas (baixa fertilidade e acidez do solo), físicas (compactação ou erosão) ou biológicas (diminuição dos teores de matéria orgânica e/ou redução da macrofauna). Os processos de degradação do solo geralmente estão associados com a perda ou diminuição do teor de matéria orgânica (GREENLAND; WILD; ADAMS, 1992), o que se reflete na fertilidade do solo por afetar a ciclagem e a disponibilidade dos nutrientes no sistema (STEVENSON, 1985).

A constante remoção de forragem pelo animal, sem a devida reposição dos nutrientes extraídos pelas plantas, acentua os problemas de degradação dos pastos. As pastagens de *Brachiaria* têm expressiva demanda pelo nutriente nitrogênio, sendo um dos macronutrientes encontrados em mais elevadas concentrações no tecido foliar (OLIVEIRA et al., 2004; BODDEY et al., 2004). Plantas de *Brachiaria* deficientes em nitrogênio apresentam-se cloróticas e com baixa produção de massa seca. Tais sintomas ocorrem em decorrência da síntese de clorofila e proteínas que ficam prejudicadas pela carência de nitrogênio na planta (MARSCHNER, 1995). A eficiência da transformação do nitrogênio mineral absorvido em proteína vegetal é parcialmente dependente da presença do elemento enxofre (CRAWFORD et al., 2000). Embora exigido pelas plantas em baixas quantidades, o enxofre é primordial para o suprimento de aminoácidos sulfurados (cisteína, metionina e cistina), que são necessários para a síntese de diversas proteínas na planta.

Os processos de degradação dos solos (LILIENFEIN et al., 2000) e baixos teores de enxofre na atmosfera (HUSAIN; DUTKIEWICZ, 1990) de regiões distantes de grandes centros industriais, como é o caso de muitas áreas de pastagens, podem aumentar a probabilidade do surgimento de deficiência de enxofre nas plantas forrageiras. Em estádios avançados de degradação das pastagens, há dificuldade de distinguir entre sintomas de deficiência de nitrogênio e de enxofre na *Brachiaria*, pois as plantas apresentam-se pequenas e com clorose generalizada, de modo que ambos os nutrientes devem ser avaliados conjuntamente ao se realizar um programa de recuperação do pasto.

2.1.4 Recuperação de áreas de pastagens de *Brachiaria*

Segundo Dias-Filho (2005), existem três estratégias principais para a recuperação de pastagens sob processo de degradação em regiões tropicais e subtropicais, sendo as seguintes: renovação da pastagem; implantação de sistemas agroflorestais e agrícolas; e pousio da pastagem. Dentre as práticas usadas para renovação das pastagens se destacam a substituição e/ou incremento com novas espécies (BATISTA; MONTEIRO, 2008) ou suprimento de nutrientes pela adubação (BONFIM-DA-SILVA, 2005).

Considerando as pastagens formadas por capins do gênero *Brachiaria*, tem-se tornado comum nas décadas recentes a substituição da *Brachiaria decumbens* em degradação pela *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. No entanto, embora esta espécie seja reconhecidamente mais exigente em nutrientes (WERNER et al., 1996), nem sempre sua implantação é acompanhada por aplicações adequadas e constantes de fertilizantes, o que pode inviabilizar o estabelecimento dessas plantas.

Embora todos os nutrientes sejam importantes na produção das pastagens de *Brachiaria* sob recuperação, estudos demonstraram que o uso de nitrogênio e de enxofre simultaneamente e de forma equilibrada tem sido eficaz tanto no incremento da produção de capim-Braquiária em processo de degradação (BONFIM-DA-SILVA, 2005), como no aumento da produção de massa seca do capim-Marandu recém-implantado em solo oriundo de área de capim-Braquiária degradada (BATISTA; MONTEIRO, 2008). As proporções de nitrogênio e de enxofre supridas via adubação visam complementar o

nitrogênio e enxofre disponíveis no solo e relacionados ao teor de matéria orgânica, de forma que as quantidades desses elementos atendam as exigências nutricionais da planta (DIJKSHOORN; van WIJK, 1967), a fim de efetivar a recuperação da pastagem e maximizar a produção da gramínea.

2.2 Nitrogênio e enxofre na produção de gramíneas forrageiras

A produção das gramíneas forrageiras é a resultante do crescimento e desenvolvimento dos seus órgãos, cujo processo está estreitamente relacionado à quantidade e às formas iônicas dos nutrientes disponíveis na solução do solo (MARSCHNER, 1995). Elementos, como o nitrogênio, podem influenciar a produção da gramínea, tanto por ação das formas na morfogênese vegetal (WANG; BELOW, 1992; BELTRANO et al., 1999; WALCH-LIU et al., 2000; SANTOS, 2003; RAHAYU et al., 2005), bem como pelo aumento de material vegetal impulsionado pela síntese de proteínas (CRAWFORD et al., 2000) induzida pelo incremento no fornecimento de nitrogênio à planta (DOTZENKO, 1961; LAURIAULT; KIRKSEY; DONART, 2002; REICH et al., 2003). A resposta à adubação nitrogenada aparenta ser generalizada para as plantas da família Poaceae (Gramineae), conforme Xia e Wan (2008). Revisando 304 estudos que avaliaram o efeito da adubação nitrogenada na produção de espécies de plantas, Xia e Wan (2008) constataram que a biomassa das gramíneas aumentou 78,7 % mediante o suprimento de nitrogênio via fertilizantes.

Considerando as gramíneas forrageiras, na literatura encontram-se diversos trabalhos que comprovam a resposta positiva da adubação nitrogenada no aumento da produtividade das pastagens compostas por essas plantas (DOTZENKO, 1961; VICENTE-CHANDLER, 1973; LAURIAULT; KIRKSEY; DONART, 2002; REICH et al., 2003).

Apesar de muitas vezes ser negligenciado nos programas de adubação adotados por produtores agropecuários, o enxofre também tem comprovada contribuição no aumento da produção de gramíneas forrageiras (MONTEIRO; CARRIEL, 1987; KLESSA et al., 1988; SANTOS; MONTEIRO, 1999; KALMBACHER et al., 2005).

Embora as adubações de nitrogênio e de enxofre isoladas promovam respostas positivas na produção de diversas espécies de capins, tem-se verificado que esses

efeitos benéficos podem ser potencializados pela adubação simultânea de nitrogênio e de enxofre em proporções adequadas (BROWN et al., 2000; KOWALENKO, 2004; BONFIM-DA-SILVA, 2005; KALMBACHER et al., 2005; MATHOT et al., 2008; BATISTA; MONTEIRO, 2008). Kalmbacher et al. (2005), estudando a resposta do *Paspalum notatum* à adubação combinada de quatro doses de nitrogênio (0 a 255 kg ha⁻¹ ano⁻¹) e quatro doses de enxofre (0 a 40 kg ha⁻¹ ano⁻¹), constataram aumento na produção de massa seca, na concentração de nitrogênio na planta e no nitrogênio recuperado, incrementando as doses de enxofre e na ausência de adubação nitrogenada (controle). Em estudo avaliando o efeito da combinação de três doses de nitrogênio (40, 80 e 105 kg ha⁻¹) e duas doses de enxofre (0 e 25 kg ha⁻¹) na produção de pastagens de *Lolium spp.* em oito solos da Bélgica, Mathot et al. (2008) observaram que o suprimento de enxofre aumentou em média de 800 kg ha⁻¹ ano⁻¹ a produção de massa seca das plantas.

Estudos demonstraram que o fornecimento concomitante de nitrogênio e de enxofre aumentam a produção de massa seca das gramíneas ao incrementar o número de perfilhos (McKENZIE; JACOBS; KEARNEY, 2002; PREMAZZI; MONTEIRO; CORRENTE, 2003) e a área foliar (BONFIM-SILVA; MONTEIRO; SILVA, 2007; BATISTA; MONTEIRO, 2008) das plantas.

O aumento da produção das gramíneas adubadas com nitrogênio e enxofre aparenta também estar relacionado ao melhor aproveitamento da água pela planta (BONFIM-SILVA; MONTEIRO; SILVA, 2007). Bonfim-Silva, Monteiro e Silva (2007), trabalhando com *Brachiaria decumbens*, verificaram incremento da eficiência do uso da água das plantas supridas com nitrogênio e enxofre simultaneamente.

A adição de nitrogênio e de enxofre via adubo mineral na adubação das plantas altera a dinâmica desses elementos no solo (STEVENSON, 1985). Assim, parte desses elementos é absorvida diretamente pelas plantas da solução do solo, enquanto que outra parte está sujeita as transformações biológicas e bioquímicas (McGILL; COLE, 1991), sendo incorporada nas distintas frações orgânicas e minerais nitrogenadas e com enxofre do solo.

2.3 Nitrogênio e enxofre no solo

2.3.1 Disponibilidade de nitrogênio e de enxofre no solo

Os teores de nitrogênio e de enxofre do solo são dependentes dos atributos físico-químicos do solo, do clima da região, do tipo de plantas que compõe o sistema de culturas que vegeta o solo e, principalmente, da quantidade e tipo de matéria orgânica. De modo geral, o teor de nitrogênio total pode variar entre 0,6 e 5 g dm⁻³ na camada superficial de solos cultivados (BREMNER, 1996), cujas formas disponíveis às plantas são os íons nitrato e amônio, os quais representam comumente 5 % do montante total desse nutriente no solo. De modo análogo ao nitrogênio, a forma de enxofre disponível às plantas também tem correspondido a aproximadamente 5 % do enxofre total do solo, sendo composta basicamente pelo íon sulfato (TABATABAI, 2005). Segundo Tabatabai (2005), a crosta terrestre possui teores de enxofre total estimados entre 0,6 e 1,0 g dm⁻³ de solo, ressaltando que processos pedogenéticos originam solos com ampla variação nos valores totais do enxofre no solo (NEPTUNE; TABATABAI; HANWAY, 1975; NGUYEN; GOH, 1992; SOLOMON et al., 2001; LILIENFEIN et al., 2003; WANG et al., 2006).

2.3.2 Frações de nitrogênio no solo

Em solos bem aerados a forma predominante de nitrogênio mineral é o nitrato, pois o processo de nitrificação pela ação das bactérias é muito rápido. Estudos de campo verificaram a relação teor de nitrato e de amônio variando de 10:1 a 20:1, devido à localização da amostra de solo retirada no transecto (LARK et al., 2004). O ânion nitrato no solo está constantemente sujeito a lixiviação, sendo que seu teor pode mudar rapidamente devido à precipitação pluvial e/ou fatores que afetem a atividade microbiana, tais como: pH, temperatura e concentração de oxigênio. O pH do solo, por sua vez, pode ser alterado pelo sistema de culturas e pelo uso de fertilização nitrogenada (VIEIRA et al., 2008).

Solos sustentando *Brachiaria* têm-se mostrado como caso especial no estudo das proporções dos teores de nitrato e amônio. Embora sejam solos bem aerados, diversos

estudos verificaram teores elevados de amônio, os quais têm chegado a superar os teores de nitrato no solo (ISHIKAWA et al., 2003; BONFIM-DA-SILVA, 2005; BATISTA, 2006). Esse fato é atribuído às substâncias fenólicas exsudadas por raízes, identificadas primeiramente em *Brachiaria humidicola* (GOPALAKRISHNAN et al., 2007), e que possuem a propriedade de inibir o processo de nitrificação no solo (SUBBARAO et al., 2006). Considerando o processo adaptativo das plantas, essa disponibilidade das formas de nitrogênio no solo com *Brachiaria* e sem adubação, provavelmente afete o crescimento e desenvolvimento da planta de forma distinta daquela observada quando, por exemplo, se adiciona nitrogênio na forma de nitrato na adubação.

2.3.3 Frações de enxofre no solo

O enxofre existe no solo nas formas orgânica e mineral. Sob o ponto de vista da nutrição das plantas, o enxofre inorgânico na forma sulfato é a fração mais importante, por ser prontamente disponível à absorção pelas raízes das plantas. Entretanto, a concentração de enxofre mineral disponível está relacionada aos processos biológicos e bioquímicos que mediam as transformações entre a fração orgânica e mineral do enxofre do solo, por meio de mineralização e/ou imobilização (McGILL; COLE, 1991).

As frações orgânicas de enxofre do solo podem ser denominadas de acordo com os reagentes químicos empregados nos métodos de separação dessas frações (TABATABAI, 1982, 2005). Assim, têm-se três frações de enxofre orgânico do solo, ou seja: enxofre reduzível por ácido iodídrico (HI); enxofre ligado a carbono reduzível pela liga metálica de Raney-Níquel (Ni); e enxofre orgânico residual. O enxofre reduzível por HI é composto pelo enxofre inorgânico na forma de sulfato (enxofre-sulfato) e pela fração enxofre-éster. Devido às dificuldades intrínsecas ao método de fracionamento de enxofre do solo (TABATABAI, 1982), diversos autores se limitam a analisar e discutir apenas duas grandes frações contendo enxofre, sendo elas a fração de enxofre reduzível por HI e a fração de enxofre ligada a carbono (MAYNARD; STEWART; BETTANY, 1985; SOLOMON et al., 2001; GOH; PAMIDI, 2003; CURTIN; BEARE; McCALLUM, 2007). A fração de enxofre ligada a carbono é composta pela fração de enxofre ligada a carbono reduzível por Raney-Ni somada à fração de enxofre orgânico residual.

A fração enxofre-éster engloba os compostos orgânicos do solo em cuja estrutura química predominam ligações C-O-S, dentre os quais têm-se: arilsulfatos, alquilsulfatos, sulfatos fenólicos, sulfatos lipídicos e polissacarídeos de sulfato como sulfato de condroitina, sulfato de colina e sulfato de queratina (SCHERER, 2001; TABATABAI, 2005). Segundo Zinder e Brock (1978), esses compostos contendo enxofre são originários de material vegetal, excreções e restos de animais, e/ou transformação do sulfato do solo via microflora.

A fração enxofre ligado a carbono (C-S) reduzível por liga de Raney-Ni é formada basicamente por aminoácidos contendo enxofre, que são cisteína, metionina e cistina (FRENEY; MELVILLE; WILLIAMS, 1975; TABATABAI, 2005). Para o restante da fração orgânica de enxofre ligado a carbono não reduzível por HI e nem por Raney-Ni (enxofre orgânico residual), ainda não se obteve identificação precisa dos constituintes químicos.

As concentrações das distintas frações de enxofre variam de acordo com o solo e localização geográfica (NEPTUNE; TABATABAI; HANWAY, 1975; ERIKSEN; MURPHY; SCHNUG, 1998). Neptune, Tabatabai e Hanway (1975), trabalhando com seis solos agrícolas brasileiros, verificaram para as frações enxofre-éster, enxofre ligado a carbono reduzível por Raney-Ni e enxofre orgânico residual concentrações relativas ao enxofre total do solo variando entre: 20,3 a 65,0; 5,0 a 12,4; e 24,3 a 59,3 %, respectivamente.

A dinâmica das frações de enxofre orgânico do solo pode ser influenciada pelo uso de fertilizantes (FRENEY; MELVILLE; WILLIAMS, 1975; MAYNARD; STEWART; BETTANY, 1985; GHANI; McLAREN; SWIFT, 1993), pela planta (HU et al., 2002; GOH; PAMIDI, 2003) e pelos processos regidos pelos microrganismos do solo (McGILL; COLE, 1991; KERTESZ; MIRLEAU, 2004). Segundo Freney, Melville e Williams (1975) e Li, Lin e Zhou (2001), todas as frações contendo enxofre podem disponibilizar o referido elemento na solução do solo para a nutrição das plantas, sendo a contribuição de cada fração diretamente relacionada à magnitude do efeito dos fatores mencionados.

2.4 Nitrogênio e enxofre nas plantas

2.4.1 Metabolismo e funções do nitrogênio nas plantas

De acordo com a espécie de planta, estágio de desenvolvimento e do órgão vegetativo, a quantidade de nitrogênio pode variar de 20 a 50 g kg⁻¹ de tecido vegetal seco (MARSCHNER, 1995). Dentre os macronutrientes, o nitrogênio é o que mais altera a composição da planta, pois afeta o metabolismo da planta tanto pela quantidade (DOTZENKO, 1961; LAURIAULT; KIRKSEY; DONART, 2002; REICH et al., 2003), como pela forma disponível (WANG; BELOW, 1992; BELTRANO et al., 1999; WALCH-LIU et al., 2000; SANTOS, 2003; RAHAYU et al., 2005) à planta na solução do solo.

A incorporação do nitrogênio em composto orgânico nas plantas é realizada a partir da forma de amônio. Portanto, dependendo da forma de nitrogênio disponível no meio e absorvida pelas raízes, as plantas têm necessidade de prévia redução dessa forma absorvida para posterior assimilação nos aminoácidos (MARSCHNER, 1995).

O nitrato absorvido pelas raízes precisa ser reduzido a amônio por um complexo formado por duas enzimas: a redutase do nitrato e a redutase do nitrito. A redutase do nitrato, cuja ativação é promovida pelo molibdênio-cofator (MENDEL, 2007), converte o nitrato em nitrito nas raízes ou nas folhas das plantas. Seguindo a reação em cadeia, a enzima redutase do nitrito converte rapidamente o nitrito a amônio. A conversão do amônio em aminoácidos é realizada pelas enzimas sintase da glutamina e sintetase do glutamato (glutamina oxoglutamato aminotransferase), na rota conhecida como GS-GOGAT, que resulta em glutamina (primeira etapa) e glutamato (etapa final). O amônio também pode ser convertido em glutamato pela rota alternativa da enzima desidrogenase do glutamato (GDH). A partir da glutamina e do glutamato são sintetizados outros aminoácidos pelas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

O amônio absorvido diretamente do solo pelas raízes é convertido prontamente pela GS-GOGAT ou GDH em aminoácidos, proporcionando economia energética em termos de moléculas de trifosfato de adenosina (ATP) requeridas no processo de redução (BLOOM; SUKRAPANNA; WARNER, 1992). Como o requerimento de energia é baixo para a assimilação da forma de amônio, praticamente todo amônio absorvido é assimilado na própria raiz (MARSCHNER; KIRKBY; ÇAKMAK, 1996).

Além do papel fundamental na síntese de proteínas nas plantas (CRAWFORD et al., 2000), o nitrogênio é constituinte da molécula de clorofila e da enzima ribulose-bifosfato carboxilase oxigenase (Rubisco), cujas concentrações foliares influenciam diretamente a eficiência fotossintética da planta. Em adição, as formas nitrato e amônio são estreitamente relacionadas à indução de síntese e translocação do fitohormônio citocinina (SAMUELSON; LARSSON, 1993; WALCH-LIU et al., 2000; BAUER; BANGERTH; von WIRÉN, 2007), o qual é determinante nos processos de quebra de dormência de meristemas laterais. A disponibilidade de outros íons, como sulfato, pode limitar a utilização eficiente do nitrogênio absorvido pela planta sob a forma nitrato ou amônio (CRAWFORD et al., 2000).

2.4.2 Metabolismo e funções do enxofre nas plantas

O requerimento nutricional da maioria das plantas é atendido com concentrações de enxofre na massa seca vegetal entre 1 e 5 g kg⁻¹, sendo que as exigências em relação à quantidade do elemento demandada para adequada nutrição da planta aumentam nas famílias de plantas de acordo com a seguinte ordem: Poaceae (Gramineae) < Fabaceae (Leguminoseae) < Cruciferae (MARSCHNER, 1995).

A assimilação do sulfato absorvido pelas plantas exige alto gasto energético pelas células no processo de redução do referido ânion até o aminoácido cisteína (HELL, 1997), o qual é o primeiro composto orgânico sulfurado estável nas plantas (CRAWFORD et al., 2000). O processo assimilatório inicia com a ativação do enxofre-sulfato pela enzima ATP sulfurilase formando adenosina-5-fosfosulfato (APS). A atividade desta enzima é regulada por vários fatores externos, como luz, e internos, como a disponibilidade do sulfato no substrato (MARSCHNER, 1995). O sulfato ativado, como adenosina-5-fosfosulfato (APS), é reduzido por meio de duas enzimas (redutase do APS e redutase do sulfito) a sulfeto. Em seguida o sulfeto é incorporado na O-acetilserina pela ação da enzima OAS-tiol-liase para formar acetato e cisteína (TAIZ; ZEIGER, 2004). A partir do aminoácido cisteína são sintetizados os outros aminoácidos contendo enxofre nas plantas (metionina e cistina).

Os aminoácidos cisteína e metionina servem como precursores para a síntese de coenzimas (por exemplo: coenzima A), ferredoxina e metabólicos secundários como

glutathiona, fitoquelatina, glucosinolatos, tioredoxina e aliinas (MARSCHNER, 1995). Embora seja freqüentemente o macronutriente encontrado em mais baixa concentração no tecido vegetal das plantas, o enxofre atua em diversas rotas fisiológicas e bioquímicas que governam o aproveitamento dos demais nutrientes, especialmente o nitrogênio (KOPRIVA; RENNENBERG, 2004).

2.4.3 Interações nitrogênio x enxofre no metabolismo das plantas

A união das rotas metabólicas de assimilação do nitrogênio e do enxofre é representada pela incorporação do sulfeto na O-acetilserina pela enzima OAS-tiol-liase na formação da cisteína (CRAWFORD et al., 2000). O α -aminoácido O-acetilserina é originário da serina por ação da enzima acetiltransferase da serina (SATase). Por sua vez, a serina é formada no processo de fotorrespiração da planta, sendo o nitrogênio presente em sua estrutura produto da redução e assimilação do nitrogênio absorvido do solo (HAWKESFORD, 2000; KOPRIVA; RENNENBERG, 2004). Limitações de nitrogênio ou enxofre nas plantas são manifestadas nesse ponto de convergência das rotas assimilatórias, o que ocasiona acúmulo ou carência de produtos sintetizados (BOLTON; NOWAKOWSKI; LAZARUS, 1976; MILLARD; SAHARP; SCOTT, 1985; KARMOKER et al., 1991; GIORDANO; PEZZONI; HELL, 2000; THOMAS et al., 2000; PROSSER et al., 2001; NIKIFOROVA et al., 2006), sendo esse desbalanço nutricional refletido na síntese de proteínas vegetais (DIJKSHOORN; van WIJK, 1967).

A interação nitrogênio x enxofre no metabolismo aparenta não se restringir apenas à síntese de proteínas. Em diversos estudos com espécies vegetais foi constatada redução na atividade da enzima redutase do nitrato sob condições de enxofre limitante no substrato, o que culminou em incremento das concentrações de nitrato no tecido vegetal (FRIEDRICH; SCHRADER, 1978; GIORDANO; PEZZONI; HELL, 2000; THOMAS et al., 2000; PROSSER et al., 2001). Desse modo, infere-se que o metabolismo das plantas pode ser alterado de acordo com a forma de nitrogênio combinada com o enxofre na adubação.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE.

Mercado mundial de carne bovina. Disponível em:

<http://www.abiec.com.br/estatisticas_relatorios.asp>. Acesso em: 07 nov. 2008.

BATISTA, K. **Nitrogênio e enxofre na implantação do capim-Marandu em substituição ao capim-Braquiária em degradação num solo com baixo teor de matéria orgânica.** 2006. 125 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição Mineral de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

BATISTA, K.; MONTEIRO, F.A. Nitrogênio e enxofre nas características morfogênicas do capim-Marandu em substituição ao capim-Braquiária em degradação em solo com baixo teor de matéria orgânica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, p. 1151-1160, 2008.

BAUER, B.; BANGERTH, F.; von WIRÉN, N. Influence of nitrogen forms on tillering, cytokinin transport and yield in cereal crop plants. In: NITROGEN2007 SYMPOSIUM, 2007, Lancaster. **Abstracts...** Lancaster: Lancaster University, 2007. p. 112.

BELTRANO, J.; RONCO, M.G.; BARREIRO, R.; MONTALDI, E.R. Plant architecture of *Paspalum vaginatum* Schwartz modified by nitrate and ammonium nutrition. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, p. 1159-1166, 1999.

BLOOM, A.J.; SUKRAPANNA, S.S.; WARNER, R.L. Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley. **Plant Physiology**, Rockville, v. 99, p. 1294-1301, 1992.

BODDEY, R.M.; MACEDO, R.; TARRÉ, R.M.; FERREIRA, E.; OLIVEIRA, O.C. de; REZENDE, C.P.; CANTARUTTI, R.B.; PEREIRA, J.M.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. Nitrogen cycling in *Brachiaria* pastures: the key to understanding the process of pasture decline. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 103, p. 389-403, 2004.

BOLTON, J.; NOWAKOWSKI, T.Z.; LAZARUS, W. Sulphur-nitrogen interaction effects on the yield and composition of the protein-N, non-protein-N and soluble carbohydrates in perennial ryegrass. **Journal of Science Food and Agriculture**, New York, v. 27, p. 553-560, 1976.

BONFIM-DA-SILVA, E.M. **Nitrogênio e enxofre na recuperação de capim Braquiária em degradação em Neossolo Quartzarênico com expressiva matéria orgânica.** 2005. 123 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição Mineral de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

BONFIM-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A.; SILVA, T.J.A. Nitrogênio e enxofre na produção e no uso de água pelo capim-Braquiária em degradação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 309-317, 2007.

BREMNER, J.M. Nitrogen total. In: SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T.; SUMMER, M.E. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2nd ed. Madison: SSSA; ASA, 1996. pt. 3: Chemical methods, p. 1085-1121.

BROWN, L.; SCHOLEFIELD, D.; JEWKES, E.C.; PREEDY, N.; WADGE, K.; BUTLER, M. The effect of sulphur application on the efficiency of nitrogen use in two contrasting grassland soils. **Journal of Agricultural Science**, New York, v. 135, p. 131-138, 2000.

CRAWFORD, N.M.; KAHN, M.L.; LEUSTEK, T.; LONG, S.R. Nitrogen and sulphur. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Ed.). **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. chap. 16, p. 786-849.

CURTIN, D.; BEARE, M.H.; McCALLUM, F.M. Sulphur in soil and light fraction organic matter as influenced by long-term application of superphosphate. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 39, p. 2547-2554, 2007.

DIAS-FILHO, M.B. **Degradação de pastagens**: processos, causas e estratégias de recuperação. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2005. 173 p.

DIJKSHOORN, W.; van WIJK, A.L. The sulphur requirements of plants as evidenced by the sulphur-nitrogen ratio in the organic matter: a review of published data. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 26, p. 129-157, 1967.

DOTZENKO, A.D. Effect of different levels on the yield, total nitrogen content, and nitrogen recovery of six grasses grown under irrigation. **Agronomy Journal**, Madison, v. 53, p. 131-133, 1961.

ERIKSEN, J.; MURPHY, M.D.; SCHNUG, E. The soil sulphur cycle. In: SCHNUG, E. (Ed.). **Sulphur in agroecosystems**. Dordrecht; Boston; London: Kluwer Academic, 1998. p. 39-73.

FERRAZ, F.M. Pastagens garantem o futuro da pecuária leiteira. In: FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Anualpec 2003**: anuário da pecuária brasileira. São Paulo, 2003. p. 55-56.

FRENEY, J.R.; MELVILLE, G.E.; WILLIAMS, C.H. Soil organic matter fractions as sources of plant-available sulphur. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 7, p. 217-221, 1975.

FRIEDRICH, J.W.; SCHRADER, L.E. Sulfur deprivation and nitrogen metabolism in maize seedlings. **Plant Physiology**, Rockville, v. 61, p. 900-903, 1978.

- GHANI, A.; McLAREN, R.G.; SWIFT, R.S. The incorporation and transformations of ^{35}S in soil: effects of soil conditioning and glucose or sulphate additions. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 327-335, 1993.
- GIORDANO, M.; PEZZONI, V.; HELL, R. Strategies for the allocation of the resources under sulfur limitation in the green alga *Dunaliella salina*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 124, p. 857-864, 2000.
- GOH, K.M.; PAMIDI, J. Plant uptake of sulphur as related to changes in the HI-reducible and total sulphur fractions in soil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 250, p. 1-13, 2003.
- GOPALAKRISHNAN, S.; SUBBARAO, G.V.; NAKAHARA, K.; YOSHIHASHI, T.; ITO, O.; MAEDA, I.; ONO, H.; YOSHIDA, M. Nitrification inhibitors from the root tissues of *Brachiaria humidicola*, a tropical grass. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 55, p. 1385-1388, 2007.
- GREENLAND, D.J.; WILD, A.; ADAMS, D. Organic matter dynamics in soils of the tropics – from myth to complex reality. In: LAL, R.; SANCHEZ, P. A. (Ed.) **Myths and science of soils of the tropics**. Wisconsin: Soil Science Society of America, 1992. p. 17-33. (SSSA. Special Publication, 29).
- HAWKESFORD, M.J. Plant response to sulphur deficiency and the genetic manipulation of sulphate transporters to improve S-utilization efficiency. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 131-138, 2000.
- HELL, R. Molecular physiology of plant sulfur metabolism. **Planta**, New York, v. 202, p. 138-148, 1997.
- HU, Z.; YANG, Z.; XU, C.; HANEKLAUS, S.; CAO, Z.; SCHNUG, E. Effect of crop growth on the distribution and mineralization of soil sulfur fractions in the rhizosphere. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 165, p. 249-254, 2002.
- HUSAIN, L.; DUTKIEWICZ, V.A. A long-term (1975-1988) study of atmospheric SO_4^{2-} : regional contributions and concentration trends. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 24A, p. 1175-1187, 1990.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo agropecuário 2006**. Rio de Janeiro, 2006. 146 p.
- ISHIKAWA, T.; SUBBARAO, G.V.; ITO, O.; OKADA, K. Suppression of nitrification and nitrous oxide emission by the tropical grass *Brachiaria humidicola*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 255, p. 413-419, 2003.
- KALMBACHER, R.S.; EZENWA, I.V.; ARTHINGTON, J.D.; MARTIN, F.G. Sulfur fertilization of Bahiagrass with varying levels of nitrogen fertilization on a Florida Spodosol. **Agronomy Journal**, Madison, v. 97, p. 661-667, 2005.

KARMOKER, J.L.; CLARKSON, D.T.; SAKER, L.R.; ROONEY, J.M.; PURVES, J.V. Sulphate deprivation depresses the transport of nitrogen to the xylem and the hydraulic conductivity of barley (*Hordeum vulgare* L.) roots. **Planta**, New York, v. 185, p. 269-278, 1991.

KELLER-GREIN, G.; MAASS B.L.; HANSON. J. Natural variation in *Brachiaria* and existing germplasm collections. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B. do; KUMBLE, V. (Ed.) **Brachiaria**: biology, agronomy, and improvement. CIAT: Cali; Campo Grande: EMBRAPA, CNPGC, 1996. chap. 2, p. 16–42.

KERTESZ, M.A.; MIRLEAU, P. The role of soil microbes in plant sulphur nutrition. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 1939-1945, 2004.

KLESSA, D.A.; FRAME, J.; GOLIGHTLY, R.D.; HARKESS, R.D. The effect of fertilizer sulphur on grass production for silage. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 44, p. 277-281, 1989.

KOPRIVA, S.; RENNENBERG, H. Control of sulphate assimilation and glutathione synthesis: interaction with N and C metabolism. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 1831-1842, 2004.

KOWALENKO, C.G. Variations in within-season nitrogen and sulfur interaction effects on forage grass response to combinations of nitrogen, sulfur, and boron applications. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 35, p. 759-780, 2004.

LARK, R.M.; MILNE, A.E.; ADDISCOTT, T.M.; GOULDING, K.W.T.; WEBSTER, C.P.; O'FLAHERTY, S. Scale- and location-dependent correlation of nitrous oxide emissions with soil properties: an analysis using wavelets. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 22, p. 611-627, 2004.

LAURIAULT, L.M.; KIRKSEY, R.E.; DONART, G.B. Irrigation and nitrogen effects on tall wheatgrass yield in the southern high plains. **Agronomy Journal**, Madison, v. 94, p. 792-797, 2002.

LI, S.; LIN, B.; ZHOU, W. Soil organic sulfur mineralization in the presence of growing plants under aerobic and waterlogged conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, p. 721-727, 2001.

LILIENFEIN, J.; WILCKE, W.; AYARZA, M.A.; VILELA, L.; LIMA, S.C.; ZECH, W. Chemical fractionation of phosphorus, sulphur, and molybdenum in Brazilian savannah Oxisols under different land use. **Geoderma**, Amsterdam, v. 96, p. 31-46, 2000.

LILIENFEIN, J.; WILCKE, W.; VILELA, L.; AYARZA, M.A.; LIMA, S.C.; ZECH, W. Soil fertility under native Cerrado and pasture in the Brazilian savanna. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 67, p. 1195-1205, 2003.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2nd ed. London: Academic Press, 1995. 889 p.

MARSCHNER, H.; KIRKBY, E.; ÇAKMAK, I. Effect of mineral nutrition status on shoot- and root partitioning of photoassimilates and cycling of mineral nutrients. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 47, p. 1255-1263, 1996.

MATHOT, M.; MERTENS, J.; VERLINDEN, G.; LAMBERT, R. Positive effects of sulphur fertilisation on grasslands yields and quality in Belgium. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 28, p. 655-658, 2008.

MAYNARD, D.G.; STEWART, J.W.B.; BETTANY, J.R. The effects of plants on soil sulfur transformations. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 17, p. 127-134, 1985.

MCGILL, W.B.; COLE, C.V. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. **Geoderma**, Amsterdam, v. 26, p. 267-286, 1981.

McKENZIE, F.R.; JACOBS, J.L.; KEARNEY, G. The long-term impact of nitrogen fertiliser on perennial ryegrass tiller and white clover growing point densities in grazed dairy pastures in south-western Victoria. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 53, p. 1203-1209, 2002.

MENDEL, R.R. Biology of the molybdenum cofactor. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, p. 2289-2296, 2007.

MILLARD, P.; SAHARP, G.S.; SCOTT, N.M. The effect of sulphur deficiency on the uptake and incorporation of nitrogen in ryegrass. **Journal of Agricultural Science**, New York, v. 105, p. 501-504, 1985.

MITIDIERI, F.J. Mais do que nunca, o “boi de capim” agrega valor. In: FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Anualpec 2003**: anuário da pecuária brasileira. São Paulo, 2003. p. 51-52.

MONTEIRO, F.A.; CARRIEL, J.M. Aplicação de níveis de enxofre na forma de gesso para o cultivo do capim-Colonião em dois solos arenosos do Estado de São Paulo. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 44, p. 335-347, 1987.

NEPTUNE, A.M.L.; TABATABAI, M.A.; HANWAY, J.J. Sulfur fractions and carbon-nitrogen-phosphorus-sulfur relationships in some Brazilian and Iowa soils. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 39, p. 51-55, 1975.

NGUYEN, M.L.; GOH, K.M. Status and distribution of soil sulphur fractions, total nitrogen and organic carbon in camp and non-camp soils of grazed pastures supplied with long-term superphosphate. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 14, p. 181-190, 1992.

NIKIFOROVA, V. J.; BIELECKA, M.; GAKIÈRE, B.; KRUEGER, S.; RINDER, J.; KEMPA, S.; MORCUENDE, R.; SCHEIBLE, W.-R.; HESSE, H.; HOEFGEN, R. Effect of sulfur availability on the integrity of amino acid biosynthesis in plants. **Amino Acids**, New York, v. 30. p. 173-183, 2006.

OLIVEIRA, O.C. de; OLIVEIRA, I.P. de; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Chemical and biological indicators of decline/degradation of *Brachiaria* pastures in the Brazilian Cerrado. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 103, p. 289-300, 2004.

PREMAZZI, L.M.; MONTEIRO, F.A.; CORRENTE, J.E. Tillering of Tifton 85 Bermudagrass in response to nitrogen rates and time of application after cutting. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, p. 565-571, 2003.

PROSSER, I.A.; PURVES, J.V.; SAKER, L.R.; CLARKSON, D.T. Rapid disruption of nitrogen metabolism and nitrate transport in spinach plants deprived of sulphate. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, p. 113-121, 2001.

RAHAYU, Y.S.; WALCH-LIU, P.; NEUMANN, G.; RÖMHELD, V.; von WIRÉN, N.; BANGERTH, F. Root-derived cytokinins as long-distance signals for NO_3^- induced stimulation of leaf growth. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, p. 1143-1152, 2005.

REICH, P.B.; BUSCHENA, C.; TJOELKER, M.G.; WRAGE, K.; KNOPS, J.; TILMAN, D.; MACHADO, J.L. Variation in growth rate and ecophysiology among 34 grasslands and savanna species under contrasting N supply: a test of functional group differences. **New Phytologist**, Oxford, v. 157, p. 617-631, 2003.

RENVOIZE, S.A.; CLAYTON, W.D.; KABUYE, C.H.S. Morphology, taxonomy and natural distribution of *Brachiaria* (Trin.) Griseb. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B. do; KUMBLE, V. (Ed.). **Brachiaria: biology, agronomy, and improvement**. CIAT: Cali; Campo Grande: EMBRAPA, CNPGC, 1996. chap. 1, p. 1-17.

SAMUELSON, M.E.; LARSSON, C. Nitrate regulation of zeatin riboside levels in barley roots: effects of inhibitors of N assimilation and comparison with ammonium. **Plant Science**, Shannon, v. 93, p. 77-84, 1993.

SANTOS, A.R.; MONTEIRO, F.A. Produção e perfilhamento de *Brachiaria decumbens* Stapf. em função de doses de enxofre. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, p. 112-117, 1999.

SANTOS, J.H.S. **Proporções de nitrato e amônio na nutrição e produção dos capins Aruana e Marandu**. 2003. 81 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

SCHERER, H.W. Sulphur in crop production – invited paper. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 14, p. 81-111, 2001.

SOLOMON, D.; LEHMANN, J.; TEKALIGN, M.; FRITZSCHE, F.; ZECH, W. Sulfur fractions in particle-size separates of the sub-humid Ethiopian highlands as influenced by land use changes. **Geoderma**, Amsterdam, v. 102, p. 41-59, 2001.

STEVENSON, F. **Cycles of soil carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur and micronutrients**. New York: John Wiley, 1985. 380 p.

SUBBARAO, G.V.; ISHIKAWA, T.; ITO, O.; NAKAHARA, K.; WANG, H.Y.; BERRY, W. L. A bioluminescence assay to detect nitrification inhibitors released from plant roots: a case study with *Brachiaria humidicola*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 288, p. 101-112, 2006.

TABATABAI, M.A. Sulfur. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: SSSA; ASA, 1982. pt 2: Chemical methods, p. 501-538.

_____. Chemistry of sulfur in soils. In: TABATABAI, M.A.; SPARKS, D.L. (Ed.). **Chemical processes in soils**. Madison: SSSA, 2005. chap. 3, p. 193-226. (SSSA Book Series, 8).

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Tradução de E.R. Santarém et al. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

THOMAS, S.G.; BILSBORROW, P.E.; HOCKING, T.J.; BENNETT, J. Effect of sulphur deficiency on the growth and metabolism of sugar beet (*Beta vulgaris* cv Druid). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New York, v. 80, p. 2057-2062, 2000.

VICENTE-CHANDLER, J. Intensive grassland management in Puerto Rico. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 2, p. 173-215, 1973.

VIEIRA, F.C.B.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; ZANATTA, J.; BISSANI, C.A. Long-term acidification of a Brazilian Acrisol as affected by no till cropping systems and nitrogen fertilizer. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 46, p. 17-26, 2008.

WALCH-LIU, P.; NEUMANN, G.; BANGERTH, F.; ENGELS, C. Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 227-237, 2000.

WANG, J.; SOLOMON, D.; LEHMANN, J.; ZHANG, X.; AMELUNG, W. Soil organic sulfur forms and dynamics in the Great Plains of North America as influenced by long-term cultivation and climate. **Geoderma**, Amsterdam, v. 133, p. 160-172, 2006.

WANG, X.; BELOW, F.E. Root growth, nitrogen uptake, and tillering of wheat induced by mixed nitrogen source. **Crop Science**, Madison, v. 32, p. 997-1002, 1992.

WERNER, J.C.; PAULINO, V.T.; CANTARELLA, H., ANDRADE, N.O.; QUAGGIO, J.A. Forrageiras. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Fundação IAC, 1996. p. 263-274. (IAC. Boletim Técnico, 100).

XIA, J.; WAN, S. Global response patterns of terrestrial plant species to nitrogen addition. **New Phytologist**, Oxford, v. 179, p. 428-439, 2008.

ZINDER, S.H.; BROCK, T.D. Microbial transformations of sulfur in the environment. In: NRIAGU, J.O. (Ed.). **Sulfur in the environment**: New York: John Willey, 1978. pt 2: Ecological impacts, p. 445-466.

3 NITROGÊNIO E ENXOFRE NA ADUBAÇÃO PARA SUBSTITUIÇÃO DE CAPIM-BRAQUIÁRIA EM DEGRADAÇÃO PELO CAPIM-MARANDU: ASPECTOS PRODUTIVOS, ESTADO NUTRICIONAL DA PLANTA E FERTILIDADE DO SOLO

Resumo

A degradação de pastagens formadas por plantas do gênero *Brachiaria* tem causado preocupações aos pecuaristas brasileiros. O uso de fertilizantes e novas opções de *Brachiaria* têm sido propostos como alternativas para a recuperação desses pastos. Nesse contexto, elaborou-se o presente trabalho com o objetivo de estudar combinações de doses de nitrogênio e doses de enxofre na produção da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (capim-Marandu) em implantação em solo oriundo de área vegetada com *Brachiaria decumbens* (capim-Braquiária) em degradação, e avaliar as alterações nas concentrações desses elementos no tecido vegetal e no solo promovidas pela adubação com nitrogênio e enxofre. O experimento foi realizado em casa de vegetação em Piracicaba (SP), Brasil, em vasos contendo solo classificado como Neossolo Quartzarênico com expressivo teor de matéria orgânica, no período de janeiro a maio de 2006. Avaliaram-se cinco doses de nitrogênio (0; 100; 200; 300 e 400 mg dm⁻³) combinadas com cinco doses de enxofre (0; 10; 20; 30 e 40 mg dm⁻³), em um fatorial 5² fracionado. O delineamento experimental foi o de blocos inteiramente aleatorizados, com quatro repetições. Realizaram-se três cortes das plantas de capim-Marandu, nos seguintes períodos: 43 dias após o transplante, 35 dias após o primeiro corte e 48 dias após o segundo corte. A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre na adubação foi significativa para as variáveis área foliar total, número de perfilhos, massa seca da parte aérea, concentração de nitrogênio e relação N:S na planta, e teores de nitrogênio total e enxofre-sulfato do solo em pelo menos um dos três ciclos de crescimento do capim-Marandu em fase de estabelecimento. A adição de enxofre à adubação nitrogenada visando balancear a relação N:S no fertilizante em aproximadamente 10:1 propiciou elevada produção de massa seca, com concentrações de nitrogênio e de enxofre adequadas para o metabolismo da planta e produção de forragem, bem como manteve e/ou incrementou a fertilidade do solo em relação aos referidos nutrientes.

Palavras-chave: *Brachiaria brizantha*; Fertilizante; Produção; Relação N:S

Abstract

The degradation of *Brachiaria* pastures has resulted in a big problem for the Brazilian cattlemen. The use of fertilizers and replacement of the *Brachiaria* species are alternatives proposed to recover these pasture areas. The objective of this study was to assess fertilization with nitrogen and sulphur rates on yield of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (Marandu palisadegrass) under establishment in a soil supporting degrading pasture of *Brachiaria decumbens* (Signal grass). Additionally, the concentrations of

nitrogen and sulphur in plant tissue and soil according to the rates of these nutrients were evaluated. The study was carried out in a greenhouse, at Piracicaba (SP), Brazil, in pots filled with a soil classified as an Entisol with high organic matter content, from January to May 2006. Five rates of nitrogen (0; 100; 200; 300 and 400 mg dm⁻³) and five rates of sulphur (0; 10; 20; 30 and 40 mg dm⁻³) were tested in a 5² fractionated factorial. The experiment was set in a randomized block design, with four replications. Plants were harvest three times, at: 43 days after the transfer of the seedlings to the pots, 35 days after the first harvest and 48 days after the second harvest. The interaction nitrogen rates x sulphur rates was significant for the variables leaf area, tiller number, above-ground dry matter, nitrogen concentration and N:S ratio in plants, and total nitrogen and sulfate-sulphur in the soil in at least one of the three growth periods of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu in establishment. The supply of both sulphur and nitrogen to reach the N:S ratio about 10:1 in the fertilization promoted high yield, adequate nitrogen and sulphur concentrations for plant metabolism and forage production, as well as kept and/or raised the soil fertility in relation to these nutrients.

Keywords: *Brachiaria brizantha*; Fertilizer; N:S ratio; Yield

3.1 Introdução

A produção de bovinos alimentados exclusivamente com pastagens naturais ou cultivadas caracteriza o setor agropecuário brasileiro. O Brasil possui cerca de 172 milhões de hectares de pastagens que sustentam um rebanho bovino de aproximadamente 170 milhões de cabeças (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2006). Cerca de 55% da área total de pastagens é composta por capins do gênero *Brachiaria* (FERRAZ, 2003) pela sua adaptabilidade às variadas condições de clima e solo (KELLER-GREIN; MAASS; HANSON, 1996). Nas décadas recentes, as pastagens de *Brachiaria* vêm apresentando graves problemas de degradação em diversas regiões do país.

A degradação das pastagens de gramíneas é caracterizada pelo cenário de plantas com baixa produção de massa seca e baixa concentração de nutrientes como reflexo, muitas vezes, da diminuição da fertilidade do solo, de modo que a área não consegue suportar a devida carga animal, culminando com a morte das plantas e erosão do solo (DIAS-FILHO, 2005). Essa situação não tem somente conseqüências econômicas para o produtor, mas também se reflete em problemas ambientais. Segundo Margulis (2003), a principal responsável pela derrubada de floresta na região

amazônica é a atividade pecuária, onde o pecuarista busca a abertura de novas áreas para repor as áreas perdidas por degradação da pastagem.

Como solução ao problema de degradação dos pastos, muitos pecuaristas optam pela substituição da espécie de *Brachiaria* com o intuito de manter a produtividade de forragem. No entanto, de modo geral as espécies escolhidas para essa substituição são mais exigentes em fertilidade do solo e, sem a adequada nutrição dessa nova planta forrageira, o objetivo pode não ser plenamente alcançado.

Considerando o aspecto nutricional das gramíneas, tem-se o conhecimento que a resposta à adubação nitrogenada é positiva (DOTZENKO, 1961; LAURIAULT; KIRKSEY; DONART, 2002; REICH et al., 2003). Realizando uma extensa revisão de 304 estudos, Xia e Wan (2008) constataram que a produção de biomassa das gramíneas aumentou em 78,7 % mediante o uso de nitrogênio na adubação. No caso da *Brachiaria spp.*, embora a disponibilidade de nitrogênio também seja importante para a produção (BODDEY et al., 2004), constata-se que nem sempre este elemento isolado é o fator limitante nas áreas de pastagens degradadas (OLIVEIRA et al., 2004).

Enquanto o uso de nitrogênio foi difundido na fertilização das pastagens, o enxofre que, por meio das rotas metabólicas está ligado diretamente ao nitrogênio na síntese de proteínas da planta (CRAWFORD et al., 2000), continua sendo negligenciado pelos pecuaristas nos programas de adubação. Fatores como solos intemperizados (LILIENTFEIN et al., 2000) e baixo teor de SO₂ atmosférico na região (HUSAIN; DUTKIEWICZ, 1990) também contribuem para a constatação de pastagens apresentando plantas com sintomas de deficiência de enxofre. Os sintomas de deficiência de enxofre nas gramíneas, por vezes, se confundem com sintomas de deficiência de nitrogênio, pois a baixa disponibilidade de enxofre no meio pode afetar o metabolismo do nitrogênio pela diminuição nos teores dos aminoácidos cisteína e metionina (NIKIFOROVA et al., 2006), por diminuir a atividade da enzima nitrato redutase (PROSSER et al., 2001) e/ou por reduzir a translocação de nitrato no xilema (KARMOKER et al., 1991). Dijkshoorn e wan Wijk (1967) destacaram a importância de manter a razão N:S das gramíneas próxima de 14:1, visando a nutrição equilibrada dessas plantas, em relação a esses nutrientes.

Pesquisas têm demonstrado a relevância do uso de enxofre simultaneamente com nitrogênio na adubação para aumentar e sustentar a produção de pastagens formadas por gramíneas (BROWN et al., 2000; KOWALENKO, 2004; KALMBACHER et al., 2005; MATHOT et al., 2008). Kalmbacher et al. (2005), estudando a resposta do *Paspalum notatum* à adubação combinada de quatro doses de nitrogênio (0-255 kg ha⁻¹ ano⁻¹) e quatro doses de enxofre (0-40 kg ha⁻¹ ano⁻¹), verificaram aumento na produção de massa seca, na concentração de nitrogênio na planta e no nitrogênio recuperado, incrementando as doses da adubação sulfatada e na ausência de adubação nitrogenada (controle).

Como as plantas respondem de forma particular ao suprimento combinado de nitrogênio e de enxofre na adubação, há a demanda por pesquisas para avaliar a ampla variação de doses de nitrogênio e de enxofre, no intuito de elucidar a combinação mais adequada para a eficiência produtiva da planta aliada à manutenção da fertilidade do solo. Objetivou-se estudar combinações de doses de nitrogênio e doses de enxofre na produção da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu recém-implantada em solo oriundo de área vegetada com *Brachiaria decumbens* em degradação, bem como avaliar as alterações nas concentrações desses elementos no tecido vegetal e no solo promovidas pela adubação com nitrogênio e enxofre.

3.2 Material e métodos

O estudo foi conduzido com solo oriundo de área de pastagens formada há 12 anos por *Brachiaria decumbens*, coletado na Fazenda Agrícola Brejo das Almas no município de Santa Maria da Serra-SP (22° 34' S, 48° 09' O), Brasil, e classificado como Neossolo Quartzarênico (EMBRAPA, 1999). A pastagem apresentava áreas descobertas com plantas pequenas e cloróticas caracterizando a fase de degradação. Optou-se pela realização da pesquisa sob condições controladas com o objetivo de testar um maior número de combinações de doses de nitrogênio e doses de enxofre e, ao mesmo tempo, isolar os efeitos dos tratamentos de adubação de possíveis interferências ambientais como luz, temperatura e suprimento hídrico, além da deposição de dejeções animais.

O experimento foi realizado em casa de vegetação, em vasos com capacidade de 3,6 L em Piracicaba-SP (22° 43' S, 47° 38' O), Brasil, no período de janeiro a maio de 2006, utilizando-se a gramínea forrageira *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. A temperatura média do ar no interior da casa de vegetação esteve em torno de 30 °C durante o período experimental.

O solo coletado a campo (0-20 cm) foi posto para secar ao ar durante o período de aproximadamente 15 dias. Após esse tempo, procedeu-se o peneiramento em malha de 4 mm, para o descarte de cascalhos e frações orgânicas grosseiras como raízes e folhas. Com o solo seco e peneirado, retiraram-se 5,6 kg para compor cada unidade experimental. As características químicas da amostra do solo, antes da aplicação dos tratamentos, foram: pH (CaCl₂) = 4,53; M.O. = 32,1 g kg⁻¹; P-resina e S-sulfato = 5,8 e 7,4 mg dm⁻³, respectivamente; K, Ca, Mg, H + Al, SB e CTC = 2,43; 13,0; 8,67; 40,0; 24,1 e 64,1 mmol_c dm⁻³, respectivamente, e V e m = 37,6 e 16,9 %, respectivamente. Tendo em conta as exigências nutricionais da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu realizou-se calagem com o emprego do V₂ da fórmula de 50 %, com a utilização dos sais CaCO₃ e MgCO₃, com PRNT de 78,3 %. Após a mistura dos carbonatos ao solo adicionaram-se 950 mL de água em cada vaso, para incubação pelo período de 30 dias.

Foram estudadas as combinações de cinco doses de nitrogênio (0; 100; 200; 300 e 400 mg dm⁻³) com cinco doses de enxofre (0; 10; 20; 30 e 40 mg dm⁻³), em estudo de superfície de resposta do desenho experimental composto central modificado de um fatorial 5² fracionado, de acordo com Littell e Mott (1975). O delineamento experimental foi o de blocos inteiramente aleatorizados, com quatro repetições. As 13 combinações das doses de nitrogênio com as doses de enxofre, em mg dm⁻³, foram: 0-0; 0-20; 0-40; 100-10; 100-30; 200-0; 200-20; 200-40; 300-10; 300-30; 400-0; 400-20; e 400-40. O nitrogênio e o enxofre foram fornecidos como NH₄NO₃ e CaSO₄.2H₂O, respectivamente, sendo a quantidade de cálcio igualada nas unidades experimentais pelo emprego do CaCl₂.6H₂O. As adubações de base com macronutrientes para o estabelecimento do capim-Marandu foram: fósforo = 200 mg dm⁻³, potássio = 150 mg dm⁻³ e magnésio = 50 mg dm⁻³ fornecidos pelas seguintes fontes: CaH₂PO₄, KH₂PO₄, KCl e MgCl₂.6H₂O. Repetiram-se, após cada corte, as adubações para suprir os elementos nitrogênio, enxofre e potássio, enquanto a aplicação adicional de magnésio foi de 20 mg dm⁻³,

devido à não aplicação de fósforo a partir do primeiro corte, o que reduziu a quantidade de cálcio a ser equilibrada. A adubação básica referente aos micronutrientes boro, cobre, zinco e molibdênio foi realizada antes do plantio do capim com as seguintes fontes e quantidades dos produtos: $\text{H}_3\text{BO}_3 = 1,5 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 2,5 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{ZnCl}_2 = 2,0 \text{ mg dm}^{-3}$; e $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 0,25 \text{ mg dm}^{-3}$.

A umidade do solo nos vasos foi mantida por um sistema auto-irrigante subsuperficial, de acordo com Bonfim-Silva, Monteiro e Silva (2007), o qual repunha a água conforme a evapotranspiração do sistema solo-planta.

Cultivaram-se cinco plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu por vaso. Três cortes das plantas foram realizados nos seguintes períodos: 43 dias após o transplante, 35 dias após o primeiro corte e 48 dias após o segundo corte. Cortaram-se as plantas a 4 cm de altura do solo e o material vegetal foi posto para secagem em estufa de ventilação forçada a 65°C até massa constante. Por ocasião da colheita foram quantificados também o número de perfilhos e a área foliar das plantas. A área foliar foi determinada com o auxílio de aparelho integrador de área foliar LI-COR®, modelo LI 3100.

A avaliação do estado nutricional das plantas de capim-Marandu em relação aos nutrientes nitrogênio e enxofre foi realizada nas folhas recém-expandidas (folhas diagnósticas), de acordo com Monteiro (2005). As concentrações de nitrogênio e de enxofre total foram determinadas segundo metodologia descrita por Nelson e Sommers (1973) e Tabatabai (1982), respectivamente.

Amostragens de solo foram realizadas em todas as unidades experimentais em cada colheita das plantas. O solo foi secado ao ar, fracionado em moinho, peneirado em peneira de 2 mm e encaminhado para determinação de nitrogênio total e enxofre-sulfato. O nitrogênio total do solo foi determinado pelo método de Kjeldahl (BREMNER, 1996) e o enxofre-sulfato foi extraído pela solução de fosfato de cálcio e determinado pelo método de turbidimetria (TABATABAI, 1982).

As variáveis receberam o recomendado tratamento estatístico, com análise em superfície de resposta por meio do “Statistical Analysis System” (SAS, 2004). Inicialmente, foi realizada a análise de variância para as combinações das doses de nitrogênio e enxofre. Nos casos de significância do teste F da interação nitrogênio x

enxofre, efetuou-se o estudo de regressão polinomial (superfície de resposta) por meio do procedimento RSREG. Nos casos em que a interação nitrogênio x enxofre não foi significativa, efetuou-se o estudo de regressão de primeiro e segundo graus para as doses de nitrogênio e/ou de enxofre, por meio do comando GLM. Utilizou-se o nível de significância de 5 % em todos os testes estatísticos. Os símbolos (*) e (**) nos membros das equações de regressão indicam significância de 5 e 1%, respectivamente, do correspondente termo matemático.

3.3 Resultados e discussão

A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre não foi significativa para a área foliar do capim-Marandu no primeiro crescimento, sendo verificado efeito positivo da adubação nitrogenada no incremento da referida variável (Figura 3.1a). Considerando o segundo e terceiro crescimentos, constatou-se significância para a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre na área foliar dessa planta forrageira (Figuras 3.1b e 3.1c). A máxima área foliar no segundo crescimento foi obtida com as doses de nitrogênio e de enxofre de 334 e 31 mg dm⁻³, respectivamente. Para o terceiro crescimento, a máxima área foliar foi obtida na dose de nitrogênio de 375 mg dm⁻³, sendo que a dose de enxofre para tal produção extrapola os limites testados neste estudo.

O aumento da área foliar da planta forrageira com o suprimento dos elementos nitrogênio e enxofre na adubação aumenta a eficiência fotossintética da planta (PARSONS et al., 1983) por incrementar a área de interceptação luminosa (AKMAL; JANSSENS, 2004). Pastagens compostas por plantas com áreas foliares maiores tendem a manter maior área foliar residual após o processo de desfolha pelo animal, o que favorece a restabelecimento da pastagem (BROUGHAM, 1956).

O número de perfilhos foi influenciado pela aplicação de nitrogênio no primeiro e segundo crescimentos das plantas, sendo os resultados ajustados aos modelos polinomiais de primeiro e segundo grau, respectivamente (Figuras 3.1d e 3.1e). A combinação de adubação com nitrogênio e enxofre foi significativa em afetar a produção do número de perfilhos do capim-Marandu no terceiro crescimento, sendo que o máximo

perfilhamento ocorreu com a aplicação de 270 e 29 mg dm⁻³ de nitrogênio e de enxofre, respectivamente (Figura 3.1f).

O efeito positivo da adubação nitrogenada no perfilhamento de gramíneas forrageiras tem sido relatado por outros autores (WILMAN; PEARSE, 1984; McKENZIE; JACOBS; KEARNEY, 2002; PREMAZZI; MONTEIRO; CORRENTE, 2003). Trabalhando com *Cynodon spp.* em casa de vegetação, Premazzi, Monteiro e Corrente (2003) observaram que a adição de nitrogênio de 80 mg dm⁻³ aumentou a produção de perfilhos do capim em aproximadamente 65 %. McKenzie, Jacobs e Kearney (2002), ao avaliarem doses de nitrogênio que variaram de 0 a 225 kg ha⁻¹ ano⁻¹ durante três anos de experimento, observaram aumentos na densidade de perfilhos de *Lolium perenne* (azevém perene) de acordo com o incremento da adubação nitrogenada.

O fato da interação nitrogênio x enxofre mostrar significância no perfilhamento do capim-Marandu apenas no terceiro crescimento, diferentemente da variável área foliar, demonstra que a adubação nitrogenada exerce maior influência naquele parâmetro produtivo da planta (Figura 3.1). Admite-se que o nitrogênio e suas variadas formas afeta o perfilhamento da planta menos pelo aspecto nutricional e mais por sua ação na síntese e translocação do hormônio citocinina (WANG; BELOW, 1996; WALCH-LIU et al., 2000).

Seguindo o padrão de variação dos seus componentes, área foliar e número de perfilhos (Figura 3.1), a produção de massa seca da parte aérea do capim-Marandu foi afetada pela adubação nitrogenada no primeiro crescimento (Figura 3.2a). No entanto, a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre foi significativa para a variável produção de massa seca da parte aérea do capim na época do segundo e terceiro cortes das plantas (Figuras 3.2b e 3.2c). As doses de nitrogênio e de enxofre que promoveram a máxima produção foram de 300 e 30 mg dm⁻³, respectivamente, para o segundo crescimento, e de 321 e 31 mg dm⁻³, respectivamente, para o terceiro crescimento do capim-Marandu. Esses valores correspondem à relação N:S na adubação de aproximadamente 10:1 (Figuras 3.2b e 3.2c), e concordam com as relações entre doses de nitrogênio e doses de enxofre na adubação de 10,8:1 e de 9,3:1 verificadas para obtenção das produções máximas de área foliar e perfilhos, respectivamente (Figuras 3.1b e 3.1f).

Figura 3.1 - Área foliar total e número de perfilhos em resposta às doses de nitrogênio (a;d;e) e à adubação combinada de doses de nitrogênio e de enxofre (b;c;f) no primeiro (a;d), segundo (b;e) e terceiro (c;f) crescimentos do capim-Marandu na fase de estabelecimento

Figura 3.2 - Produção de massa seca da parte aérea em resposta às doses de nitrogênio (a) e à adubação combinada de doses de nitrogênio e de enxofre (b;c) por ocasião do primeiro (a), segundo (b) e terceiro (c) cortes do capim-Marandu na fase de estabelecimento

Corroborando resultados de outros autores (MITCHELL; BLUE, 1989; KALMBACHER et al., 2005), o aumento nas doses de nitrogênio resultou em incremento na demanda de enxofre pelas gramíneas até atingir a produção máxima (300 mg dm^{-3}). Esse padrão de variação é explicado pelo aumento na demanda de aminoácidos contendo enxofre (cisteína, metionina e cistina) quando a síntese de proteínas é acelerada pelo suprimento de nitrogênio à planta (CRAWFORD et al., 2000).

A intensificação do perfilhamento e do crescimento da área foliar (Figura 3.1) provavelmente aumentaram as exigências nutricionais da planta a partir do segundo crescimento, o que se refletiu na importância do suprimento de enxofre na resposta de produção de massa seca do capim (Figura 3.2). Considerando o segundo e terceiro cortes do capim (Figuras 3.2b e 3.2c), a produção média de massa seca nos tratamentos sem nitrogênio foi de $11,8 \text{ g / vaso}$, enquanto que o tratamento com 400 mg dm^{-3} de nitrogênio e sem enxofre produziu apenas $10,8 \text{ g / vaso}$. A adição de 30 mg dm^{-3} de enxofre no tratamento 300 mg dm^{-3} de nitrogênio aumentou a produção de massa seca do capim-Marandu em aproximadamente 160 %. Kalmbacher et al. (2005) verificaram que o suprimento de enxofre de 285 kg ha^{-1} , sem adubação nitrogenada, aumentou a produção de massa seca do *Paspalum notatum* de 1140 para 2640 kg ha^{-1} . Em pesquisas avaliando o efeito da combinação de três doses de nitrogênio ($40, 80$ e 105 kg ha^{-1}) e duas doses de enxofre (0 e 25 kg ha^{-1}) na produção de pastagens de *Lolium spp.* em oito solos da Bélgica, Mathot et al. (2008) observaram que o suprimento de enxofre aumentou em média $800 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ a produção de massa seca da planta.

Com relação ao aspecto nutricional da planta forrageira, constatou-se que a interação de doses de nitrogênio x doses de enxofre foi significativa para a concentração de nitrogênio na planta nas folhas recém-expandidas (folhas diagnósticas) colhidas no primeiro e terceiro cortes do capim-Marandu (Figura 3.3a e 3.3c). No segundo corte do capim somente a adubação nitrogenada mostrou resposta significativa, que resultou em incremento linear da concentração de nitrogênio no tecido vegetal das folhas diagnósticas (Figura 3.3b).

Nas folhas recém-expandidas coletadas no primeiro corte do capim-Marandu, a concentração de nitrogênio aumentou tanto em função do incremento nas doses de

nitrogênio, bem como em função da elevação das doses de enxofre aplicadas (Figura 3.3a). Na ocasião do terceiro corte das plantas, o efeito do nitrogênio no aumento da concentração de nitrogênio nas folhas diagnósticas foi mais pronunciado nas doses menores de enxofre ($0-10 \text{ mg dm}^{-3}$) devido ao menor crescimento da planta (Figura 3.3c). Nos três crescimentos das plantas, a concentração de nitrogênio no tecido foliar variou de $3,2$ a $39,2 \text{ g kg}^{-1}$ (Figura 3.3), sendo que trabalhos anteriores indicam valores médios a partir de 13 g kg^{-1} como adequados para gramíneas do gênero *Brachiaria* (INTERNATIONAL CENTER FOR TROPICAL AGRICULTURE - CIAT, 1981; WERNER et al., 1996; HÄUSLLER et al., 2006).

Para as doses médias de nitrogênio e de enxofre que promoveram a máxima produção de massa seca do capim-Marandu (300 e 30 mg dm^{-3} , respectivamente), determinaram-se as concentrações de nitrogênio nas folhas recém-expandidas correspondentes de 27 , 26 e 15 g kg^{-1} no tecido vegetal no primeiro, segundo e terceiro cortes da planta forrageira, respectivamente (Figura 3.3).

A concentração de enxofre nas folhas recém-expandidas não foi afetada pelas combinações de nitrogênio e de enxofre na adubação do capim-Marandu (Figuras 3.3d, 3.3e e 3.3f). Nos três crescimentos a adubação sulfatada promoveu aumentos lineares na concentração de enxofre nas folhas recém-expandidas do capim-Marandu, com variação de aproximadamente $0,6 \text{ g kg}^{-1}$ até próximo de $1,5 \text{ g kg}^{-1}$. No primeiro crescimento do capim, a adubação nitrogenada resultou em incremento linear na concentração de enxofre no tecido foliar (Figura 3.3d), o que se deve possivelmente ao aumento no crescimento radicular em virtude da adição de nitrogênio ao solo (dados não mostrados) e ao enxofre-sulfato prontamente disponível pela mineralização da matéria orgânica como consequência do preparo do solo na instalação do experimento. No terceiro crescimento, o aumento do uso de nitrogênio resultou em alteração na concentração de enxofre segundo o padrão de variação quadrático (Figura 3.3f), o que reflete as variações ocorridas na produção de massa seca da parte aérea em função da adubação nitrogenada (Figura 3.2c) e é explicado pela diluição de nutrientes.

Figura 3.3 - Concentrações de nitrogênio e de enxofre nas folhas recém-expandidas da planta em resposta às doses de nitrogênio (b;d;f), às doses de enxofre (d;e;f) e à adubação combinada de doses de nitrogênio e de enxofre (a;c) por ocasião do primeiro (a;d), segundo (b;e) e terceiro (c;f) cortes do capim-Marandu na fase de estabelecimento

As concentrações médias dos macronutrientes fósforo, potássio, cálcio e magnésio no material coletado nos três cortes do capim-Marandu foram de 2,4, 20,7, 5,5 e 6,0 g kg⁻¹ de massa seca, sendo esses valores característicos de plantas nutridas adequadamente (CIAT, 1981; WERNER et al., 1996).

A relação N:S nas lâminas foliares recém-expandidas colhidas no primeiro corte do capim-Marandu foi alterada pela adubação nitrogenada, aumentando linearmente de 12,4:1 até 19,0:1 com o suprimento de nitrogênio via adubação (Figura 3.4a). Outros trabalhos com gramíneas também tem demonstrado aumento na relação N:S com o uso da adubação nitrogenada (WANG et al., 2002; GIERUS et al., 2005).

Avaliando-se as folhas recém-expandidas coletadas no segundo e terceiro cortes do capim-Marandu, observou-se que a relação N:S foi afetada significativamente pela adubação concomitante de nitrogênio e de enxofre (Figuras 3.4b e 3.4c). Constatou-se que a ausência de enxofre na adubação culminou em relações N:S altas no tecido foliar, principalmente quando associadas à adubações nitrogenadas elevadas (400 mg dm⁻³), o que caracteriza desbalanço metabólico da planta (DIJKSHOORN; van WIJK; 1967). De acordo com Dijkshoorn e van Wijk (1967), a relação N:S de 14:1 caracteriza adequado estado nutricional de plantas da família Poaceae (Gramineae). Estudando as respostas no material coletado no segundo e terceiro cortes do capim-Marandu, constatou-se que a relação N:S na adubação de 10:1 para as doses aproximadas de nitrogênio e de enxofre maiores que 250 e 25 mg dm⁻³, respectivamente (Figuras 3.4b e 3.4c), resultou em relações N:S que satisfazem aproximadamente as exigências para o crescimento ótimo da gramínea (DIJKSHOORN; van WIJK; 1967).

Estudando-se os nutrientes nitrogênio e enxofre no solo, verifica-se que a adubação nitrogenada afetou positivo e linearmente o teor de nitrogênio total do solo amostrado no final do primeiro e do terceiro crescimento do capim-Marandu (Figuras 3.5a e 3.5c). A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre foi significativa para essa variável no solo coletado à época do segundo corte das plantas (Figura 3.5b). As mais elevadas doses de enxofre (30-40 mg dm⁻³) resultaram nos menores incrementos no teor de nitrogênio total do solo com a adição de nitrogênio via adubação, o que se deve às maiores extrações do elemento do solo pela maior produção de massa seca pelo capim (Figura 3.2b).

Figura 3.4 - Relação N:S nas folhas recém-expandidas da planta em resposta às doses de N (a) e à adubação combinada de doses de nitrogênio e de enxofre (b;c) por ocasião do primeiro (a), segundo (b) e terceiro (c) cortes do capim-Marandu na fase de estabelecimento

Como o nitrogênio é um nutriente extraído do solo em grande quantidade pelas gramíneas forrageiras (OLIVEIRA et al., 2004; BODDEY et al., 2004; KALMBACHER et al., 2005), a adubação nitrogenada empregada deve ser ideal para manter a produção da planta e o teor do elemento no solo. Nesse contexto, verificou-se que na adubação com doses de nitrogênio até 200 mg dm^{-3} , tem-se redução média de aproximadamente 9 % no teor de nitrogênio total do solo variando do primeiro para o terceiro corte das plantas (Figuras 3.5a, 3.5b e 3.5c), o que corresponde ao período de 83 dias. Por outro lado, as doses maiores de nitrogênio ($300\text{-}400 \text{ mg dm}^{-3}$) mantiveram o nitrogênio total praticamente inalterado, isto é, o fornecimento de nitrogênio igualou-se à retirada desse nutriente do solo.

Os teores de enxofre-sulfato do solo amostrado na época do primeiro e do segundo corte da gramínea foram alterados linearmente pela adição de enxofre via adubação (Figuras 3.5d e 3.5e). O teor de enxofre-sulfato no solo aumentou em média seis vezes com a adição da dose máxima de enxofre (40 mg dm^{-3}) na adubação. No terceiro crescimento do capim-Marandu o suprimento simultâneo de nitrogênio e de enxofre afetou significativamente o teor de enxofre-sulfato do solo (Figura 3.5f), sendo que o aumento da proporção de nitrogênio na combinação diminuiu o enxofre-sulfato remanescente no solo por aumentar a produção de massa seca da planta (Figura 3.2c).

Embora teores de enxofre-sulfato do solo acima de 10 mg dm^{-3} sejam considerados suficientes para o estabelecimento de pastagens nas condições brasileiras (MACEDO, 2004), esse estudo demonstrou que a resposta produtiva das plantas é maximizado com adubações sulfatadas que elevem esse teor acima desse limite. Assim, a produção máxima de massa seca da parte aérea foi obtida na dose média de enxofre de 30 mg dm^{-3} na adubação (Figuras 3.2b e 3.2c) e que resultou em teores médios de enxofre-sulfato no solo de aproximadamente 50 mg dm^{-3} (Figuras 3.5d, 3.5e e 3.5f).

Figura 3.5 - Concentrações de nitrogênio total e de enxofre-sulfato no solo em resposta às doses de nitrogênio (a;c), às doses de enxofre (d;e) e à adubação combinada de doses de nitrogênio e de enxofre (b;f) nas amostras coletadas no primeiro (a;d), segundo (b;e) e terceiro (c;f) cortes do capim-Marandu na fase de estabelecimento

A relação N:S (nitrogênio total: enxofre total) média do solo foi de 6:1, situando-se dentro da faixa de valores de 3,4:1 a 12:1 observada em solos agrícolas do Brasil (NEPTUNE; TABATABAI; HANWAY, 1975). É importante ressaltar que aparentemente a produção da planta não ocorreu em função da decomposição da matéria orgânica do solo, uma vez que esta variável apresentou valores médios de 26,3, 33,1 e 33,5 mg dm⁻³ registrados ao final do primeiro, segundo e terceiro crescimentos do capim-Marandu, respectivamente.

Por meio dos resultados apresentados, pode-se inferir que as doses médias respectivas de nitrogênio e de enxofre de 300 e 30 mg dm⁻³ (relação N:S na adubação de 10:1), que combinadas promoveram a máxima produção de massa de capim-Marandu em estabelecimento (Figuras 3.2b e 3.2c), também atenderam as exigências nutricionais da planta para crescimento e produção de forragem aliada à reconstituição da fertilidade do solo em relação aos elementos nitrogênio e enxofre (Tabela 3.1). Embora a adubação conjunta de 300 e 30 mg dm⁻³ de nitrogênio e de enxofre, respectivamente, resulte em relação N:S nas folhas recém-expandidas pouco acima da faixa ideal, acredita-se que seja um limite tolerável porque as concentrações dos nutrientes nitrogênio e enxofre no tecido foliar da planta crescida sob essas condições de adubação estão de acordo com os valores considerados ótimos (Tabela 3.1).

Considerando a importância da relação N:S na formulação dos adubos usados na adubação de gramíneas forrageiras e sabendo que a uréia é o fertilizante nitrogenado mais utilizado pelos agricultores brasileiros (ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS - ANDA, 2007), acredita-se que prática simples como a aplicação conjunta desse adubo contendo nitrogênio com gesso agrícola é promissora no estabelecimento do capim-Marandu de forma produtiva e sustentável em área de pastagem degradada.

Tabela 3.1 - Concentrações médias dos elementos nitrogênio (N) e enxofre (S) na planta e no solo, e relação N:S média do tecido vegetal, em função das doses de nitrogênio e de enxofre de 300 e 30 mg dm⁻³ (relação N:S = 10:1), respectivamente, cuja combinação resultou aproximadamente na produção máxima de massa seca do capim-Marandu nos três ciclos iniciais de crescimento da fase de estabelecimento

VARIÁVEIS	Relação N:S na adubação 10:1 ^a	Crítérios ^b
<i>Planta</i>		
Concentração de N (g kg ⁻¹)	22,81 (± 1,42)	Concentração ótima na planta ≥ 13 g kg ⁻¹
Concentração de S (g kg ⁻¹)	1,44 (± 0,13)	Concentração ótima na planta não especificada Concentração ótima na forragem ≥ 1,0 g kg ⁻¹
Relação N:S	16,8 (± 1,20)	Relação N:S ótima na planta ≈ 14 Relação N:S ótima na forragem ≥ 10 e ≤ 14
<i>Solo</i>		
Teor de N-Total (g kg ⁻¹)	0,95 (± 0,03)	Produtividade alta da planta Manutenção e/ou incremento dos teores totais
Teor de S-sulfato (mg kg ⁻¹)	28,7 (± 2,78)	Teores totais ≥ 10 mg kg ⁻¹

^a Valores entre parênteses correspondem ao erro padrão da média

^b Fontes: Werner et al. (1996); Häusler et al. (2006); Perry (1980); Dijkshoorn e wan Wijk (1967) e Macedo (2004)

3.4 Conclusões

A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre na adubação foi significativa para as variáveis área foliar total, número de perfilhos, produção de massa seca da parte aérea, concentração de nitrogênio e relação N:S no tecido vegetal, e teores de nitrogênio total e enxofre-sulfato do solo em pelo menos um dos três ciclos de crescimento do capim-Marandu em fase de estabelecimento. Os benefícios da adubação nitrogenada na produção da planta foram maximizados pelo suprimento conjunto com enxofre. Altas doses de nitrogênio e sem fornecimento de enxofre culminaram em desequilíbrio nutricional da planta evidenciado por altas relações N:S no tecido vegetal. A adição de enxofre à adubação nitrogenada visando balancear a relação N:S no fertilizante em aproximadamente 10:1 propiciou elevada produção de massa seca, com concentrações de nitrogênio e de enxofre ótimas para o metabolismo da planta e produção de forragem, bem como manteve e/ou incrementou a fertilidade do solo em relação aos referidos nutrientes.

Referências

AKMAL, M.; JANSSENS, M.J.J. Productivity and light use efficiency of perennial ryegrass with contrasting water and nitrogen supplies. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 88, p. 143-155, 2004.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS. **Anuário estatístico do setor de fertilizantes**. São Paulo, 2007. 160 p.

BODDEY, R.M.; MACEDO, R.; TARRÉ, R.M.; FERREIRA, E.; OLIVEIRA, O.C. de; REZENDE, C.P.; CANTARUTTI, R.B.; PEREIRA, J.M.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. Nitrogen cycling in Brachiaria pastures: the key to understanding the process of pasture decline. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 103, p. 389-403. 2004.

BONFIM-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A.; SILVA, T.J.A. Nitrogênio e enxofre na produção e no uso de água pelo capim-Braquiária em degradação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 309-317, 2007.

BREMNER, J.M. Nitrogen total. In: SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T.; SUMMER, M.E. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2nd ed. Madison: SSSA; ASA, 1996. pt. 3: Chemical methods, p. 1085-1121.

BROUGHAM, R.M. Effects of intensity of defoliation on regrowth of pasture. **Australian Journal of Agriculture Research**, Collingwood, v. 7, p. 377-387, 1956.

BROWN, L.; SCHOLEFIELD, D.; JEWKES, E.C.; PREEDY, N.; WADGE, K.; BUTLER, M. The effect of sulphur application on the efficiency of nitrogen use in two contrasting grassland soils. **Journal of Agricultural Science**, New York, v. 135, p. 131-138, 2000.

CRAWFORD, N.M.; KAHN, M.L.; LEUSTEK, T.; LONG, S.R. Nitrogen and sulphur. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Ed.). **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. chap. 16, p. 786-849.

DIAS-FILHO, M.B. **Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2005. 173 p.

DIJKSHOORN, W.; van WIJK, A.L. The sulphur requirements of plants as evidenced by the sulphur-nitrogen ratio in the organic matter: a review of published data. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 26, p. 129-157, 1967.

DOTZENKO, A.D. Effect of different levels on the yield, total nitrogen content, and nitrogen recovery of six grasses grown under irrigation. **Agronomy Journal**, Madison, v. 53, p. 131-133, 1961.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. 412 p.

FERRAZ, F.M. Pastagens garantem o futuro da pecuária leiteira. In: FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Anualpec 2003**: anuário da pecuária brasileira. São Paulo, 2003. p. 55-56.

GIERUS, M.; JAHNS, U.; WULFES, R.; WIERMANN, C.; TAUBE, F. Forage quality and yield increments of intensive managed grassland in response to combined sulphur-nitrogen fertilization. **Acta Agriculturae Scandinavica**. Section B-Soil and Plant Science, Oslo, v. 55, p. 264-274, 2005.

HÄUSSLER, K.; RAO, I.M.; SCHULTZE-KRAFT, R.; MARSCHNER, H. Shoot and root growth of two tropical grasses, *Brachiaria ruziziensis* and *B. dictyoneura*, as influenced by aluminium toxicity and phosphorus deficiency in a sandy loam Oxisol of the eastern plains of Colombia. **Tropical Grasslands**, Saint Lucia, v. 40, p. 213-221, 2006.

HUSAIN, L.; DUTKIEWICZ, V.A. A long-term (1975-1988) study of atmospheric SO_4^{2-} : regional contributions and concentration trends. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 24A, p. 1175-1187, 1990.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo agropecuário 2006**. Rio de Janeiro, 2006. 146 p.

INTERNATIONAL CENTER FOR TROPICAL AGRICULTURE. **Tropical pastures program annual report 1980**. Cali, 1981. 130 p.

KALMBACHER, R.S.; EZENWA, I.V.; ARTHINGTON, J.D.; MARTIN, F.G. Sulfur fertilization of Bahiagrass with varying levels of nitrogen fertilization on a Florida Spodosol. **Agronomy Journal**, Madison, v. 97, p. 661-667, 2005.

KARMOKER, J.L.; CLARKSON, D.T.; SAKER, L.R.; ROONEY, J.M.; PURVES, J.V. Sulphate deprivation depresses the transport of nitrogen to the xylem and the hydraulic conductivity of barley (*Hordeum vulgare* L.) roots. **Planta**, New York, v. 185, p. 269-278, 1991.

KELLER-GREIN, G.; MAASS B.L.; HANSON, J. Natural variation in *Brachiaria* and existing germplasm collections. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B. do; KUMBLE, V. (Ed.) **Brachiaria**: biology, agronomy, and improvement. CIAT: Cali; Campo Grande: EMBRAPA, CNPGC, 1996. chap. 2, p. 16-42.

KOWALENKO, C.G. Variations in within-season nitrogen and sulfur interaction effects on forage grass response to combinations of nitrogen, sulfur, and boron applications. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 35, p. 759-780, 2004.

LAURIAULT, L.M.; KIRKSEY, R.E.; DONART, G.B. Irrigation and nitrogen effects on tall wheatgrass yield in the southern high plains. **Agronomy Journal**, Madison, v. 94, p. 792-797, 2002.

LILIENFEIN, J.; WILCKE, W.; AYARZA, M.A.; VILELA, L.; LIMA, S.C.; ZECH, W. Chemical fractionation of phosphorus, sulphur, and molybdenum in Brazilian savannah Oxisols under different land use. **Geoderma**, Amsterdam, v. 96, p. 31-46, 2000.

LITTELL, R.C.; MOTT, G.O. Computer assisted design and analysis of response surface experiments in agronomy. **Soil and Crop Society of Florida Proceedings**, Ona, v. 34, p. 94-97, 1975.

MACEDO, M.C.M. Análise comparativa de recomendações de adubação em pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 21., 2004, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2004. p. 317-355.

MARGULIS, S. **Causes of deforestation of the Brazilian Amazon**. Washington: The World Bank, 2003. 77 p. (World Bank Working Papers, 22).

MATHOT, M.; MERTENS, J.; VERLINDEN, G.; LAMBERT, R. Positive effects of sulphur fertilisation on grasslands yields and quality in Belgium. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 28, p. 655-658, 2008.

McKENZIE, F.R.; JACOBS, J.L.; KEARNEY, G. The long-term impact of nitrogen fertiliser on perennial ryegrass tiller and white clover growing point densities in grazed dairy pastures in south-western Victoria. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 53, p. 1203-1209, 2002.

MITCHELL, C.C.; BLUE, W.G. Bahiagrass response to sulfur on an Aeris Haplaquod. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 53-57, 1989.

MONTEIRO, F.A. Amostragem de solo e de planta para fins de análises químicas: métodos e interpretação de resultados. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 22., 2004, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 151-179.

NELSON, D.W.; SOMMERS, L.E. Determination of total nitrogen in plant material. **Agronomy Journal**, Madison, v. 65, p. 109-112, 1973.

NEPTUNE, A.M.L.; TABATABAI, M.A.; HANWAY, J.J. Sulfur fractions and carbon-nitrogen-phosphorus-sulfur relationships in some Brazilian and Iowa soils. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 39, p. 51-55, 1975.

NIKIFOROVA, V.J.; BIELECKA, M.; GAKIÈRE, B.; KRUEGER, S.; RINDER, J.; KEMPA, S.; MORCUENDE, R.; SCHEIBLE, W.-R.; HESSE, H.; HOEFGEN, R. Effect of sulfur availability on the integrity of amino acid biosynthesis in plants. **Amino Acids**, New York, v. 30, p. 173-183, 2006.

OLIVEIRA, O.C. de; OLIVEIRA, I.P. de; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Chemical and biological indicators of decline/degradation of *Brachiaria* pastures in the Brazilian Cerrado. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 103, p. 289-300. 2004.

PARSONS, A.J.; LEAFE, E.L.; COLLET, B.; STILLES, W. The physiology of grass production under grazing. I. Characteristics of leaf and canopy photosynthesis of continuously-grazed swards. **The Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 20, p. 117-126, 1983.

PERRY, T.W. **Beef cattle feeding and nutrition**. London: Academic Press, 1980. 383 p.

PREMAZZI, L.M.; MONTEIRO, F.A.; CORRENTE, J.E. Tillering of Tifton 85 Bermudagrass in response to nitrogen rates and time of application after cutting. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, p. 565-571, 2003.

PROSSER, I.A.; PURVES, J.V.; SAKER, L.R.; CLARKSON, D.T. Rapid disruption of nitrogen metabolism and nitrate transport in spinach plants deprived of sulphate. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, p. 113-121, 2001.

REICH, P.B.; BUSCHENA, C.; TJOELKER, M.G.; WRAGE, K.; KNOPS, J.; TILMAN, D.; MACHADO, J.L. Variation in growth rate and ecophysiology among 34 grasslands and savanna species under contrasting N supply: a test of functional group differences. **New Phytologist**, Oxford, v. 157, p. 617-631, 2003.

SAS INSTITUTE. **SAS® 9.1.2 windows**. Cary, 2004. 2 CD-ROM.

TABATABAI, M.A. Sulfur. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. (Ed.) **Methods of soil analysis**. Madison: SSSA; ASA, 1982. pt 2: Chemical methods, p. 501-538.

WALCH-LIU, P.; NEUMANN, G.; BANGERTH, F.; ENGELS, C. Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 227-237, 2000.

WANG, S.; WANG, Y.; SCHNUG, E.; HANEKLAUS, S.; FLECKENSTEIN, J. Effects of nitrogen and sulphur fertilization on oats yield, quality and digestibility and nitrogen and sulphur metabolism of sheep in the Inner Mongolia Steppes of China. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 62, p. 195-202, 2002.

WANG, X.; BELOW, F.E. Cytokinins in enhanced growth and tillering of wheat induced by mixed nitrogen source. **Crop Science**, Madison, v. 36, p. 121-126, 1996.

WERNER, J.C.; PAULINO, V.T.; CANTARELLA, H.; ANDRADE, N.O.; QUAGGIO, J.A. Forrageiras. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Fundação IAC, 1996. p. 263-274. (IAC. Boletim Técnico, 100).

WILMAN, D.; PEARSE, P.J. Effects of applied nitrogen on grass yield, nitrogen content, tillers and leaves in field swards. **Journal of Agricultural Science**, New York, v. 103, p. 201-211, 1984.

XIA, J.; WAN, S. Global response patterns of terrestrial plant species to nitrogen addition. **New Phytologist**, Oxford, v. 179, p. 428-439, 2008.

4 NITROGÊNIO E ENXOFRE NA EFICIÊNCIA DO USO DA ÁGUA PELO CAPIM-MARANDU EM ESTABELECIMENTO

Resumo

A necessidade de aumentar a produção agrícola aliada à preservação dos recursos hídricos impõe à ciência agrônômica o desafio da busca por tecnologias e formas de manejo visando aumentar a eficiência do uso da água pelas plantas. Neste contexto, elaborou-se o presente trabalho com o objetivo de avaliar a eficiência do uso da água pela *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (capim-Marandu) adubada com nitrogênio e enxofre na fase de estabelecimento do capim. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em Piracicaba (SP), Brasil, no período de janeiro a maio de 2006, com solo classificado como Neossolo Quartzarênico. As adubações estudadas consistiram de cinco doses de nitrogênio (0; 100; 200; 300 e 400 mg dm⁻³) e cinco doses de enxofre (0; 10; 20; 30 e 40 mg dm⁻³), as quais foram combinadas em estudo de superfície de resposta em desenho experimental composto central modificado de um fatorial 5² fracionado. Foram realizados três cortes das plantas, com períodos de crescimento de 43, 35 e 48 dias, respectivamente. A eficiência do uso da água pelo capim-Marandu foi incrementada pela utilização da adubação nitrogenada isoladamente no primeiro e terceiro períodos de crescimento na fase de estabelecimento da gramínea forrageira. O suprimento simultâneo de nitrogênio e de enxofre afetou positivamente a eficiência do uso da água pelo capim-Marandu no segundo período de crescimento da fase de implantação do capim.

Palavras-chave: Adubação; *Brachiaria brizantha*; Consumo de água; Gramínea forrageira

Abstract

The need for improving the agricultural production and at the same time saving water resources bring up an agronomical challenge about the development of new technologies related to management for increasing the water use efficiency by the plants. It was proposed a study with the purpose of evaluating the water use efficiency by *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (Marandu palisadegrass) under establishment and fertilized with nitrogen and sulphur rates. The experiment was carried out in a greenhouse in Piracicaba (SP), Brazil, from January to May 2006, in pots filled with an Entisol. Fertilization were five rates of nitrogen (0; 100; 200; 300 and 400 mg dm⁻³) combined with five rates of sulphur (0; 10; 20; 30 and 40 mg dm⁻³) designed according to the response-surface methodology based on a modified central composite design of a 5² fractionated factorial. Three harvests were performed in plants, corresponding to growth periods of 43, 35 and 48 days, respectively. The water use efficiency of the Marandu palisadegrass was increased with nitrogen fertilization in the first and third growth periods during the establishment of the grass. The supply of both nitrogen and sulphur to

Marandu palisadegrass improved the water use efficiency in the second growth period of this forage grass.

Keywords: *Brachiaria brizantha*; Fertilization; Forage grass; Water consumption

4.1 Introdução

A preocupação em relação a limitação dos recursos hídricos mundiais e a necessidade do aumento na produção de alimentos tem se tornado evidente nas décadas recentes. Uma vez que as atividades ligadas à agricultura respondem por aproximadamente 75 % da água consumida pelo homem (WALLACE, 2000), torna-se clara a demanda por esforços da pesquisa em busca de novas tecnologias e formas de manejo com o objetivo de aumentar a eficiência do uso da água pelas culturas.

Dentre as culturas agrícolas do Brasil, as pastagens merecem atenção especial no quesito de melhorar o aproveitamento da água do solo, pois ocupam cerca de 172 milhões de hectares de terra (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2006) e mostram potencial para altas taxas de produção de massa verde destinadas ao consumo animal. Estima-se que cerca de 95 milhões de hectares do total das pastagens brasileiras são ocupados por gramíneas do gênero *Brachiaria* (FERRAZ, 2003).

A água é primordial na produção da planta, e estima-se que para cada grama de matéria orgânica produzida pelo vegetal são requeridos aproximadamente 500 g de água, que são absorvidos do solo pelas raízes (TAIZ; ZEIGER, 2004). A importância da água não se restringe apenas à constituição da célula vegetal, onde representa 85 a 90 % na fase de crescimento da mesma, mas também por manter o equilíbrio térmico da planta pelo processo de transpiração regulada pelos estômatos das folhas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

A eficiência do uso da água pela planta pode ser incrementada tanto por práticas de manejo de solo, as quais afetam os processos de evapotranspiração pelas modificações nas trocas energéticas do sistema-solo, como por práticas de manejo de planta, cujo estado nutricional influencia o aproveitamento da água devido às alterações na eficiência fisiológica da mesma (HATFIELD; SAUER; PRUEGER, 2001). Segundo

Hatfield, Sauer e Prueger (2001), mudanças implementadas no manejo do solo podem aumentar a eficiência do uso da água de 25 a 40 %, enquanto modificações no manejo de nutrientes para as plantas podem incrementar esse índice de 15 a 25 %.

Dentro do aspecto nutricional das gramíneas, é importante destacar o papel fundamental do nitrogênio no aumento da produção de massa seca da planta (BATISTA; MONTEIRO, 2006; BONFIM-SILVA; MONTEIRO; SILVA, 2007). Estudos têm demonstrado que espécies de gramíneas bem supridas com nitrogênio incrementam a eficiência do uso da água do solo (STOUT; SCHNABEL, 1997; SHANGGUAN; SHAO; DYCKMANS, 2000).

Considerando a interdependência das rotas bioquímicas do nitrogênio e enxofre na síntese de proteínas (CRAWFORD et al., 2000) e a significância da interação desses nutrientes afetando a produção das gramíneas (BATISTA; MONTEIRO, 2006; BONFIM-SILVA; MONTEIRO; SILVA, 2007), especula-se sobre possíveis efeitos da aplicação combinada de nitrogênio e de enxofre no solo, em relação a eficiência do uso da água pela planta. Nesse sentido, Bonfim-Silva, Monteiro e Silva (2007), trabalhando com a combinação de doses de nitrogênio e doses de enxofre para recuperação de *Brachiaria decumbens* (capim-Braquiária) em degradação, constataram efeito significativo da interação nitrogênio x enxofre na eficiência do uso da água pelo capim, no primeiro ciclo de crescimento. Por outro lado, escassas são as informações sobre a eficiência do uso da água sob condições semelhantes de adubação na fase de estabelecimento da pastagem utilizando-se gramíneas com maiores exigências nutricionais e mais alto potencial produtivo. É na fase de estabelecimento do capim que há estruturação do sistema radicular e da área foliar inicial das plantas, o que afeta a absorção de nutrientes e as taxas fotossintéticas, respectivamente, com possíveis reflexos na eficiência do uso da água pela planta.

Com o intuito de obter algumas respostas a esses questionamentos, elaborou-se o presente trabalho com o objetivo de avaliar a eficiência do uso da água pelo capim-Marandu adubado com nitrogênio e enxofre, na fase de estabelecimento da pastagem.

4.2 Material e métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação em Piracicaba-SP (22° 43' S, 47° 38' O), Brasil, no período de janeiro a maio de 2006. Esse estudo foi conduzido com a *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, em vasos com capacidade de 3,6 L, contendo solo coletado em área de pastagem de *Brachiaria decumbens* em degradação e classificado como Neossolo Quartzarênico (EMBRAPA, 1999). O solo coletado a campo (0-20 cm) foi inicialmente posto para secagem ao ar, durante período de aproximadamente 15 dias. Após esse tempo, procedeu-se o peneiramento em malha de 4 mm, para o descarte de cascalhos e frações orgânicas grosseiras como raízes e folhas. Com o solo seco e peneirado retiraram-se 5,6 kg para compor cada unidade experimental. As características químicas da amostra do solo, antes da aplicação dos tratamentos, foram: pH (CaCl₂) = 4,53; M.O. = 32,1 g kg⁻¹; P-resina e S-sulfato = 5,8 e 7,4 mg dm⁻³, respectivamente; K, Ca, Mg, H + Al, SB e CTC = 2,43; 13,0; 8,67; 40,0; 24,1 e 64,1 mmol_c dm⁻³, respectivamente; V e m = 37,6 e 16,9 %, respectivamente. Tendo em conta as exigências nutricionais da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu realizou-se calagem considerando o valor V₂ = 50 % na fórmula para o cálculo da necessidade de calagem, a qual foi realizada com o emprego dos sais CaCO₃ e MgCO₃, com PRNT de 78,3 %. Após a mistura dos carbonatos ao solo adicionaram-se 950 mL de água para incubação pelo período de 30 dias.

Foram estudadas as combinações de cinco doses de nitrogênio (0; 100; 200; 300 e 400 mg dm⁻³) com cinco doses de enxofre (0; 10; 20; 30 e 40 mg dm⁻³), em estudo de superfície de resposta do desenho experimental composto central modificado de um fatorial 5² fracionado, de acordo com Littell e Mott (1975). O delineamento experimental foi o de blocos inteiramente aleatorizados, com quatro repetições. As 13 combinações das doses de nitrogênio com as doses de enxofre, em mg dm⁻³, foram: 0-0; 0-20; 0-40; 100-10; 100-30; 200-0; 200-20; 200-40; 300-10; 300-30; 400-0; 400-20; e 400-40. O nitrogênio e o enxofre foram fornecidos como NH₄NO₃ e CaSO₄.2H₂O, respectivamente, sendo a quantidade de cálcio equilibrada nas unidades experimentais pelo emprego do CaCl₂.6H₂O. As adubações de base com macronutrientes para o estabelecimento do capim-Marandu foram: fósforo = 200 mg dm⁻³, potássio = 150 mg dm⁻³ e magnésio = 50 mg dm⁻³ fornecidos pelas seguintes fontes: CaH₂PO₄, KH₂PO₄, KCl e MgCl₂.6H₂O.

Repetiram-se, após cada corte, as adubações para suprir os elementos nitrogênio, enxofre e potássio, enquanto a aplicação adicional de magnésio foi de 20 mg dm^{-3} , devido à não aplicação de fósforo a partir do primeiro corte, o que reduziu a quantidade de cálcio a ser equilibrada. A adubação básica referente aos micronutrientes boro, cobre, zinco e molibdênio foi realizada antes do plantio do capim com as seguintes fontes e quantidades dos produtos: $\text{H}_3\text{BO}_3 = 1,5 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 2,5 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{ZnCl}_2 = 2,0 \text{ mg dm}^{-3}$; e $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 0,25 \text{ mg dm}^{-3}$.

Durante o experimento a umidade do solo foi mantida por um sistema auto-irrigante subsuperficial de acordo com Bonfim-Silva, Monteiro e Silva (2007), o qual repunha a água conforme a necessidade da planta. Este sistema de irrigação era composto por uma cápsula porosa (vela de filtro com diâmetro de 5 cm e altura de 7 cm), disposta na porção central e superior do solo no vaso. Um microtubo flexível conectado a um reservatório de nível constante (frasco de Mariotte) completava o conjunto de irrigação. O potencial de água no solo foi estabelecido pela altura da coluna de água (30 cm) entre o vaso e o reservatório, o que corresponde à tensão de 3 kPa. O sistema se caracteriza como auto-irrigante, pois repõe a água de acordo com a evapotranspiração. Por meio da escala de nível no reservatório foi possível quantificar o consumo de água em cada vaso com plantas. Optou-se por quantificar o consumo de água para cada período (cada corte) de crescimento e desenvolvimento do capim-Marandu.

Cinco plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu foram cultivadas por vaso. Foram realizados três cortes das plantas, nos seguintes períodos: 43 dias após o transplante, 35 dias após o primeiro corte e 48 dias após o segundo corte. Cortaram-se as plantas a 4 cm de altura do solo e o material vegetal foi posto para secagem em estufa de ventilação forçada a 65°C até massa constante.

Com os resultados de consumo de água e de produção de massa seca total da parte aérea, calculou-se a eficiência do uso da água pelo capim-Marandu, de acordo com as combinações de nitrogênio e de enxofre.

As variáveis receberam o recomendado tratamento estatístico, com análise em superfície de resposta por meio do “Statistical Analysis System” (SAS, 2004). Inicialmente, foi realizada a análise de variância para as combinações das doses de

nitrogênio e enxofre. Nos casos de significância do teste F para essas combinações (interação nitrogênio x enxofre), efetuou-se o estudo de regressão polinomial (superfície de resposta) por meio do procedimento RSREG. Nos casos em que a interação nitrogênio x enxofre não foi significativa, efetuou-se o estudo de regressão de primeiro e segundo grau por meio do comando GLM. Utilizou-se o nível de significância de 5 % em todos os testes estatísticos. Os símbolos (*) e (**) nos membros das equações de regressão indicam significância de 5 e 1 %, respectivamente, do correspondente termo matemático.

4.3 Resultados e discussão

A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre não foi significativa para a variável consumo de água para o primeiro crescimento do capim-Marandu, bem como não foi significativo o efeito das adubações isoladas com nitrogênio e enxofre. No entanto, para o segundo e terceiro crescimentos, foi verificada significância para a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre em relação a quantidade de água consumida pelas plantas (Figura 4.1).

No segundo crescimento, por meio do estudo de superfície de resposta, constatou-se consumo máximo de água nas doses de 280 e 29 mg dm⁻³ de nitrogênio e enxofre, respectivamente (Figura 4.1a). Neste caso a relação entre as doses de nitrogênio e de enxofre para o máximo consumo de água foi de 9,6:1. No terceiro crescimento da gramínea, as doses de nitrogênio e de enxofre que promoveram consumo máximo de água foram de 345 e 34 mg dm⁻³, respectivamente, originando relação entre as doses desses nutrientes de 10,4:1 (Figura 4.1b).

Provavelmente não se tenha observado efeito das adubações com nitrogênio e enxofre no consumo de água pela gramínea, no primeiro ciclo de crescimento, pelo tempo demandado para a planta se estabelecer inicialmente e expandir sua área foliar de modo que cobrisse a superfície do solo. Desse modo, parte da água contabilizada como consumida nesse período foi, na verdade, perdida via evaporação da água do solo e não propriamente utilizada pela planta para produção de massa verde.

Figura 4.1 - Consumo de água pelo capim-Marandu no segundo (a) e terceiro (b) crescimentos em função das adubações com doses de nitrogênio e de enxofre

O incremento no consumo de água pelo capim com a combinação de doses de nitrogênio e doses de enxofre (Figura 4.1), no segundo e terceiros cortes, está relacionado diretamente ao efeito positivo no aumento da produção de massa seca da gramínea forrageira proporcionada pela adição concomitante desses nutrientes, como descrito por Batista e Monteiro (2006) e Bonfim-Silva, Monteiro e Silva (2007). De acordo com Hanson e Orloff (1998), existe relação estreita e positiva entre a produção de massa seca e a evapotranspiração da cultura, a qual determina a quantidade de água consumida pelas plantas.

A eficiência do uso da água expressa por meio da razão massa seca total e água consumida pela gramínea não foi influenciada pela interação doses de nitrogênio x doses de enxofre no primeiro e terceiro períodos de crescimento, havendo, no entanto, resposta significativa dessa variável para a adubação nitrogenada isoladamente, em ambos os casos (Figura 4.2a e 4.2c). No segundo crescimento do capim-Marandu, porém, constatou-se significância para a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre na eficiência do uso da água (Figura 4.2b).

A adição de nitrogênio via adubação aumentou a eficiência do uso da água no primeiro e terceiro crescimentos (Figuras 4.2a e 4.2c), sendo que as doses de nitrogênio que proporcionaram a máxima eficiência do uso da água do solo para produção de massa seca pelo capim foram 336 e 254 mg dm⁻³, respectivamente. Esses resultados estão de acordo com o trabalho de Bonfim-Silva, Monteiro e Silva (2007), que estudaram a recuperação do capim-Braquiária, já estabelecido no solo, com o emprego das adubações com nitrogênio e enxofre, verificando que o nitrogênio foi importante para aumentar a eficiência do uso da água pelas plantas em dois ciclos de crescimento e desenvolvimento. No entanto, Bonfim-Silva, Monteiro e Silva (2007) obtiveram relação massa seca: consumo de água com valor máximo próximo de 7, enquanto nesse estudo, do capim na fase de implantação, a referida relação teve seu ápice em torno de 3 (Figura 4.2c). Esse fato é atribuído aos fatores intrínsecos ligados ao capim-Marandu associado à energia dispendida pelas plantas na fase de estabelecimento.

Figura 4.2 - Eficiência do capim-Marandu no uso da água no primeiro (a) e terceiro (c) crescimentos, considerando a adubação nitrogenada, e no segundo crescimento (b), considerando a adubação com doses de nitrogênio e de enxofre

O aumento da eficiência do uso da água pelas gramíneas com a adição de nitrogênio tem sido demonstrado por outros autores (LAHIRI, 1980; SHANGGUAN; SHAO; DYCKMANS, 2000). Pesquisas comprovam que plantas bem nutridas com nitrogênio e sob condições de umidade do solo adequada apresentam diminuição no potencial de água na folha e incremento na condutância estomática, o que culmina com aumentos na eficiência do uso da água pelas plantas (SHANGGUAN; SHAO; DYCKMANS, 2000; RIPPULONE et al., 2004). Wong, Cowan e Farquhar (1979) relataram que plantas bem nutridas com nitrogênio exibem incrementos na abertura estomática devido ao aumento na capacidade de fixação de CO_2 e da capacidade fotossintética do mesófilo foliar, o que aumenta a eficiência do uso da água pela planta.

A contribuição positiva do suprimento de enxofre associado ao nitrogênio na eficiência do uso da água pela gramínea pode ser observada na Figura 4.2b. Pelo estudo da superfície de resposta pode-se constatar que a máxima eficiência do uso da água pelo capim-Marandu foi obtida com as doses de nitrogênio e enxofre de 309 e 32 mg dm^{-3} , respectivamente, sendo a relação entre esses nutrientes de 9,6:1. Tais resultados corroboram as observações relatadas por Bonfim-Silva, Monteiro e Silva (2007) no capim implantado na pastagem e enfatizam a importância do enxofre também na fase de estabelecimento da planta forrageira.

Embora não se tenha verificado efeito significativo do suprimento de enxofre na eficiência do uso da água pelo capim em todos os períodos de crescimento (Figura 4.2), pode-se afirmar que seu suprimento se faz necessário na adubação, principalmente, quando as adubações com nitrogênio são aplicadas em doses elevadas (BATISTA; MONTEIRO, 2006; BONFIM-SILVA; MONTEIRO; SILVA, 2007). Diante da necessidade de aumentos da produtividade agrícola aliadas à qualidade ambiental e preservação dos recursos naturais, torna-se primordial o uso de técnicas de manejo que visem melhorar a eficiência produtiva das culturas. Nesse sentido, observa-se na Figura 4.2b que na dose de nitrogênio de 300 mg dm^{-3} a adição de enxofre de 30 mg dm^{-3} aumentou a eficiência do uso da água pelo capim de aproximadamente 1,2 para o valor próximo de 1,8, o que representa incremento aproximado de 50 % na produção de massa seca sob similar consumo de água pelas plantas.

4.4 Conclusões

De maneira geral a adubação com os nutrientes nitrogênio e enxofre afetou positivamente o consumo e a eficiência do uso da água pela *Brachiaria brizantha* cv. Marandu na fase de estabelecimento da pastagem, sendo que o fornecimento simultâneo de doses de nitrogênio e de enxofre na relação 9,6:1 a 10,4:1 foi o mais efetivo. Em adição, o suprimento de adubo nitrogenado mostrou-se relevante no incremento da eficiência do uso da água pelo capim-Marandu no período de implantação da planta forrageira.

Referências

BATISTA, K.; MONTEIRO, F.A. Respostas morfológicas e produtivas do capim-Marandu adubado com doses combinadas de nitrogênio e enxofre. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, p. 1281-1288, 2006.

BONFIM-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A.; SILVA, T.J.A. Nitrogênio e enxofre na produção e no uso da água pelo capim-braquiária em degradação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 309-317, 2007.

CRAWFORD, N.M.; KAHN, M.L.; LEUSTEK, T.; LONG, S.R. Nitrogen and sulphur. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Ed.). **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. chap. 16, p. 786-849.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. 412 p.

FERRAZ, F.M. Pastagens garantem o futuro da pecuária leiteira. In: FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Anualpec 2003**: anuário da pecuária brasileira. São Paulo, 2003. p. 55-56.

HANSON, B.; ORLOFF, S. Double yield with half the water: is it possible? In: 1998 CALIFORNIA/NEVADA ALFALFA SYMPOSIUM, 1998, Davis. **Proceedings...** Davis: University of California, 1998. p. 75-87.

HATFIELD, J.L.; SAUER, T.J.; PRUEGER, J.H. Managing soils to achieve greater water use efficiency: a review. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, p. 271-280, 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo agropecuário 2006**. Rio de Janeiro, 2006. 146 p.

LAHIRI, A.N. Interaction of water stress and mineral nutrition on growth and yield. In: TURNER, N.C.; KRAMER, P.L. **Adaptation of plants to water and high temperature stress**. New York: John Wiley, 1980. p. 341-352.

LITTELL, R.C.; MOTT, G.O. Computer assisted design and analysis of response surface experiments in agronomy. **Soil and Crop Society of Florida Proceedings**, Ona, v. 34, p. 94-97, 1975.

RIPULLONE, F.; LAUTERI, M.; GRASSI, G.; AMATO, M.; BORGHETTI, M. Variation in nitrogen supply changes water-use efficiency of *Pseudotsuga menziesii* and *Populus x euroamericana*; a comparison of three approaches to determine water-use efficiency. **Tree Physiology**, Victoria, v. 24, p. 671-679, 2004.

SAS INSTITUTE. **SAS® 9.1.2 windows**. Cary, 2004. 2 CD-ROM.

SHANGGUAN, Z.P.; SHAO, M.A.; DYCKMANS, J. Nitrogen nutrition and water stress effects on leaf photosynthetic gas exchange and water use efficiency in winter wheat. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 44, p. 141-149, 2000.

STOUT, W.L.; SCHNABEL, R.R. Water-use efficiency of perennial ryegrass as affected by soil drainage and nitrogen fertilization on two floodplain soils. **Journal of Soil and Water Conservation**, Ankeny, v. 52, p. 207-211, 1997.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Tradução de E.R. Santarém et al. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

WALLACE, J.S. Increasing agricultural water efficiency to meet future food production. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 82, p. 105-119, 2000.

WONG, S.C.; COWAN, J.R.; FARQUHAR, G.D. Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. **Nature**, London, v. 282, p. 424-426. 1979.

5 DINÂMICA DAS FRAÇÕES ORGÂNICA E MINERAL DE NITROGÊNIO E DE ENXOFRE NO SOLO COM CAPIM-MARANDU EM ESTABELECIMENTO SOB ADUBAÇÕES NITROGENADA E SULFATADA

Resumo

As transformações físico-químicas e biológicas que ocorrem no solo são estreitamente dependentes da espécie de planta que vegeta o mesmo. A adição de nutrientes ao solo via adubação aumenta a complexidade das relações no sistema solo-planta. Neste estudo objetivou-se avaliar o efeito das combinações de doses de nitrogênio e de enxofre na adubação da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (capim-Marandu) afetando a extração pelas plantas desses elementos do solo, a matéria orgânica, o pH e as frações mineral e orgânica de nitrogênio e de enxofre de um Neossolo Quartzarênico cultivado anteriormente com *Brachiaria decumbens* (capim-Braquiária). O experimento foi realizado em vasos, com e sem plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, em casa de vegetação em Piracicaba (SP), Brasil, no período de janeiro a maio de 2006. Avaliaram-se cinco doses de nitrogênio (0; 100; 200; 300 e 400 mg dm⁻³) combinadas com cinco doses de enxofre (0; 10; 20; 30 e 40 mg dm⁻³), em estudo de superfície de resposta do desenho experimental composto central modificado de um fatorial 5² fracionado. O delineamento experimental foi o de blocos inteiramente aleatorizados, com quatro repetições. Realizaram-se três cortes das plantas de capim-Marandu, nos seguintes períodos: 43 dias após o transplante, 35 dias após o primeiro corte e 48 dias após o segundo corte. Por ocasião dos cortes das plantas coletaram-se amostras de solo para análise. A combinação de doses de nitrogênio e de enxofre na adubação da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu não afetou o teor de matéria orgânica do solo. Entretanto, a associação entre adubo nitrogenado e cultivo do capim-Marandu promoveu a acidificação do solo durante os ciclos de crescimento da planta. Na extração dos nutrientes nitrogênio e enxofre do solo pelo capim-Marandu observou-se significância para a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre. Os teores de nitrogênio total e das formas nítrica e amoniacal do solo variaram em função do nitrogênio adicionado via adubação e da remoção pelas plantas. O cultivo do capim-Marandu associado à adubação sulfatada promoveu o aumento da fração enxofre-éster do solo. O enxofre orgânico total do solo não variou com as adubações de nitrogênio e de enxofre, sendo constatada apenas interconversão do enxofre entre as frações orgânicas de acordo com o tempo. O enxofre orgânico residual do solo mostrou-se como potencial fonte de enxofre na nutrição da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

Palavras-chave: *Brachiaria brizantha*; Matéria orgânica; pH; Planta

Abstract

Physical, chemical and biological processes in soil are influenced by the plant species. The nutrients supply via fertilization usually increases the soil-plant system complexity. The objective of this study was to evaluate nitrogen and sulphur rates effects

on *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (Marandu palisadegrass), as affecting the uptake of these nutrients, soil organic matter, soil pH and organic and mineral fractions of nitrogen and sulphur in an Entisol previously cultivated with *Brachiaria decumbens* (Signal grass). The study was carried out in pots, with and without plants of Marandu palisadegrass, in a greenhouse, at Piracicaba (SP), Brazil, from January to May 2006. Five rates of nitrogen (0; 100; 200; 300 and 400 mg dm⁻³) and five rates of sulphur (0; 10; 20; 30 and 40 mg dm⁻³) were tested in a response surface methodology based on a modified central composite design of a 5² fractionated factorial. The experiment was set in a randomized block design, with four replications. Three harvests were done, at: 43 days after the transfer of the seedlings to the pots, 35 days after the first harvest and 48 days after the second harvest. Soil samples were collected at the harvest times. The use of nitrogen and sulphur rates in the fertilization of Marandu palisadegrass did not affect the soil organic matter content. However, nitrogen fertilization enhanced the acidification of the soil where *Brachiaria brizantha* cv. Marandu was grown. The interaction nitrogen rates x sulphur rates was significant for the plant nitrogen and sulphur uptake from the soil. Total nitrogen, nitrate and ammonium concentrations in the soil were affected by nitrogen supply and plant uptake. Marandu palisadegrass growth and sulphur supply increased the ester-bonded sulphur fraction in the soil. Total organic sulphur in the soil was not affected by both nitrogen and sulphur fertilizations, but conversions among soil organic fractions along the time were verified. The residual-sulphur fraction can be considered a potential source of sulphur for the *Brachiaria brizantha* cv. Marandu plant nutrition.

Keywords: *Brachiaria brizantha*; pH; Plant; Soil organic matter

5.1 Introdução

As transformações físico-químicas e biológicas que ocorrem no solo são estreitamente dependentes da espécie de planta que vegeta o mesmo (BURLE; MIELNICZUK; FOCCHI, 1997; BAYER et al., 2000). Gramíneas tropicais forrageiras, devido ao seu caráter perene, potencial para extração de nutrientes e amplo sistema radicular, conferem ao solo características distintas daquelas encontradas em solos sustentando plantas de lavouras (HYLANDER; AE, 1999). O abundante sistema radicular de plantas do gênero *Brachiaria* e sua ampla distribuição podem imprimir características de rizosfera a grande parte do solo explorado. Na interface raiz-solo ocorrem a absorção de água e de nutrientes e a deposição dos exsudatos pela planta (NGUYEN, 2003), onde se observam alterações no pH, na atividade microbiana e no potencial redox em relação ao restante do solo (MARSCHNER, 1995; BERTIN; YANG; WESTON, 2003).

O estado nutricional da planta influencia as interrelações solo-planta (MARSCHNER; RÖMHELD, 1983). Dentre os macronutrientes, o nitrogênio e o enxofre desempenham papel fundamental, pois participam simultaneamente dos dois sistemas: na planta são componentes de aminoácidos e indispensáveis para a síntese de proteínas (CRAWFORD et al., 2000) e no solo são constituintes da matéria orgânica (STEVENSON, 1985). A fração orgânica do solo pode controlar a disponibilidade de nitrogênio e enxofre para planta por meio dos processos de mineralização e imobilização mediados pelos microrganismos (STEVENSON, 1985). O melhor aproveitamento de nitrogênio e de enxofre é atingido quando os teores disponíveis desses elementos no solo atendem as exigências nutricionais da planta (DIJKSHOORN; van WIJK, 1967). Estudos demonstram que o fornecimento combinado de nitrogênio e enxofre via fertilizantes para pastagens formadas por gramíneas pode incrementar a absorção desses nutrientes do solo e aumentar a produção de massa seca dessas plantas (BROWN et al., 2000; KOWALENKO, 2004; KALMBACHER et al., 2005; MATHOT et al., 2008).

Nos solos agrícolas, cerca de 5 % do nitrogênio total encontra-se na forma mineral como nitrato ou amônio (BREMNER, 1996), a qual é prontamente disponível às plantas. Em geral, a forma nítrica predomina na fração mineral nitrogenada de solos sem restrição de oxigênio (LARK et al., 2004), pois o processo de nitrificação pela ação das bactérias é muito rápido. No entanto, em estudos com *Brachiaria humidicola* foram constatados maiores teores de amônio em relação a nitrato nos solos sustentando essa espécie (ISHIKAWA et al., 2003). Esse fato foi atribuído à substâncias fenólicas (GOPALAKRISHNAN et al., 2007) excretadas por essa planta e que possuem a propriedade de inibir o processo de nitrificação no solo (SUBBARAO et al., 2006). Informações escassas sobre outras espécies do gênero *Brachiaria* (ISHIKAWA et al., 2003) não permitem concluir se as mesmas também têm a capacidade de inibir a ação das bactérias nitrificadoras, evidenciando a necessidade de mais pesquisas abordando o assunto. Em adição, o uso de fertilizantes nitrogenados associados à espécie vegetal também definem a forma de nitrogênio dominante na fração mineral, pois podem alterar o pH do solo (VIEIRA et al., 2008).

De modo análogo ao nitrogênio, aproximadamente 95 % do enxofre total de solos bem aerados encontra-se na fração orgânica (ERIKSEN et al., 1998; TABATABAI, 2005). Segundo Tabatabai (1982, 2005), o enxofre orgânico do solo pode ser classificado em três grupos principais: (a) enxofre-éster (grupos químicos C-O-S; C-N-S e C-S-S), (b) enxofre ligado a carbono reduzível por Raney-Ni (grupo químico C-S, principalmente aminoácidos) e (c) enxofre orgânico residual. Entretanto, muitos trabalhos discutem os resultados baseados em apenas duas frações: (a) enxofre reduzível por HI (enxofre-éster + enxofre-sulfato) e (b) enxofre ligado a carbono, que nesses casos se refere ao enxofre ligado a carbono reduzível por Raney-Ni somado ao enxofre orgânico residual (MAYNARD; STEWART; BETTANY, 1985; SOLOMON et al., 2001; GOH; PAMIDI, 2003; CURTIN; BEARE; McCALLUM, 2007). O enxofre disponível às plantas encontra-se na forma de sulfato, cuja concentração no solo depende da absorção pela planta (HU et al., 2002), do uso de fertilizantes sulfatados (CASTELLANO; DICK, 1990) e dos processos de mineralização bioquímica e biológica das frações de enxofre orgânico (McGILL; COLE, 1981).

Segundo o modelo de McGill e Cole (1981), a baixa concentração de enxofre-sulfato na solução do solo estimula a mineralização de enxofre da fração enxofre-éster do solo, enquanto que o aumento da atividade microbiana resulta em incremento na mineralização de enxofre da fração ligada a carbono. De acordo com esse modelo, fatores como espécie de planta (HU et al., 2002; GOH; PAMIDI, 2003) e uso de enxofre via adubação podem afetar esses parâmetros e alterar a magnitude de cada fração constituinte do enxofre orgânico do solo. Considerando as áreas de pastagens formadas por capins do gênero *Brachiaria* nas regiões tropicais, não se tem conhecimento de pesquisas que estudaram as frações de enxofre do solo.

Objetivou-se avaliar o efeito de combinações de doses de nitrogênio e de enxofre na adubação da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu afetando: (a) a extração desses elementos do solo pelas plantas, (b) a matéria orgânica, (c) o pH e (d) as frações mineral e orgânica de nitrogênio e de enxofre de um Neossolo Quartzarênico cultivado anteriormente com *Brachiaria decumbens*.

5.2 Material e métodos

O solo estudado foi coletado numa área de pastagens formada há 12 anos por *Brachiaria decumbens* localizada na Fazenda Agrícola Brejo das Almas no município de Santa Maria da Serra-SP (22° 34' S, 48° 09' O), Brasil, sendo classificado como Neossolo Quartzarênico (EMBRAPA, 1999).

O estudo foi realizado em vasos com capacidade de 3,6 L, com e sem plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, em casa de vegetação localizada em Piracicaba-SP (22° 43' S, 47° 38' O), Brasil, no período de janeiro a maio de 2006. A temperatura média do ar no interior da casa de vegetação esteve em torno de 30 °C durante o período experimental.

Coletou-se o solo da camada 0 a 20 cm, o qual foi posto para secar ao ar durante período de aproximadamente 15 dias. Após esse tempo, procedeu-se o peneiramento em malha de 4 mm, para o descarte de cascalhos e frações orgânicas grosseiras como raízes e folhas. As unidades experimentais foram compostas por 5,6 kg de solo seco e peneirado. As características químicas da amostra do solo, antes da aplicação dos tratamentos, foram: pH (CaCl₂) = 4,53; M.O. = 32,1 g kg⁻¹; P-resina = 5,8 mg dm⁻³; K, Ca, Mg, H + Al, SB e CTC = 2,43; 13,0; 8,67; 40,0; 24,1 e 64,1 mmol_c dm⁻³, respectivamente; V e m = 37,6 e 16,9 %, respectivamente. Os teores iniciais de nitrogênio total, nitrogênio orgânico, nitrogênio amoniacal e nitrogênio nítrico do solo foram de: 919; 883; 14,3 e 21,8 mg kg⁻¹, respectivamente. As frações de enxofre do solo original representadas pelo enxofre total, enxofre orgânico, enxofre-sulfato, enxofre-éster, enxofre ligado a carbono e enxofre orgânico residual apresentaram os seguintes teores: 185; 178; 7; 40; 29,6 e 108 mg kg⁻¹, respectivamente. Considerando as exigências nutricionais da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu realizou-se calagem com o emprego do V₂ da fórmula de 50 %, com a utilização dos sais CaCO₃ e MgCO₃, com PRNT de 78,3 %. Após a mistura dos carbonatos ao solo adicionaram-se 950 mL de água, para incubação pelo período de 30 dias.

Estudaram-se combinações de cinco doses de nitrogênio (0; 100; 200; 300 e 400 mg dm⁻³) com cinco doses de enxofre (0; 10; 20; 30 e 40 mg dm⁻³), em estudo de superfície de resposta do desenho experimental composto central modificado de um fatorial 5² fracionado, de acordo com Littell e Mott (1975). O delineamento experimental

foi o de blocos inteiramente aleatorizados, com quatro repetições nos dois sistemas de cultivo (com e sem plantas), totalizando-se 104 unidades experimentais ($13 \times 4 \times 2$). As 13 combinações das doses de nitrogênio com as doses de enxofre, em mg dm^{-3} , foram: 0-0; 0-20; 0-40; 100-10; 100-30; 200-0; 200-20; 200-40; 300-10; 300-30; 400-0; 400-20; e 400-40. O nitrogênio e o enxofre foram fornecidos como NH_4NO_3 e $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, respectivamente, sendo a quantidade de cálcio balanceada nas unidades experimentais pelo emprego do $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. As adubações de base com macronutrientes para o estabelecimento do capim-Marandu foram: fósforo = 200 mg dm^{-3} , potássio = 150 mg dm^{-3} e magnésio = 50 mg dm^{-3} fornecidos pelas seguintes fontes: CaH_2PO_4 , KH_2PO_4 , KCl e $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Repetiram-se, após cada corte, as adubações para suprir os elementos nitrogênio, enxofre e potássio, enquanto a aplicação adicional de magnésio foi de 20 mg dm^{-3} , devido à não aplicação de fósforo a partir do primeiro corte, o que reduziu a quantidade de cálcio a ser equilibrada. A adubação básica referente aos micronutrientes boro, cobre, zinco e molibdênio foi realizada antes do plantio do capim com as seguintes fontes e quantidades dos produtos: $\text{H}_3\text{BO}_3 = 1,5 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 2,5 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{ZnCl}_2 = 2,0 \text{ mg dm}^{-3}$; e $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 0,25 \text{ mg dm}^{-3}$.

A umidade do solo dos vasos com plantas foi mantida por um sistema auto-irrigante subsuperficial de acordo com Bonfim-Silva, Monteiro e Silva (2007), o qual repunha a água conforme a evapotranspiração do sistema solo-planta. Nos vasos sem plantas o controle da umidade do solo foi monitorado por meio de pesagem, adicionando-se água manualmente para manter o conteúdo de água do solo em aproximadamente 80 % da capacidade de campo. Ambas as metodologias de irrigação utilizadas previnem a formação de microsítios anaeróbicos no interior do corpo do solo disposto no vaso.

Cinco plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu foram cultivadas por vaso. Realizaram-se três cortes das plantas, nos seguintes períodos: 43 dias após o transplantio, 35 dias após o primeiro corte e 48 dias após o segundo corte. As plantas foram cortadas a 4 cm de altura do solo e o material vegetal foi posto para secagem em estufa de ventilação forçada a 65°C até massa constante. Após o terceiro corte coletaram-se as raízes do capim, as quais após lavagem com água desionizada foram secadas seguindo o procedimento descrito para o restante do material vegetal.

Amostragens de solo foram realizadas nas unidades experimentais, com e sem capim-Marandu, na ocasião dos cortes das plantas. O solo amostrado foi armazenado em *freezer* a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento de ser analisado. As avaliações durante o tempo (cortes) são importantes nesta pesquisa, pois acredita-se que a rebrotação da planta após pastejo ou corte acompanhada de alterações na absorção de nutrientes e na formação e/ou morte de raízes (JARVIS; MACDUFF, 1989; THORTON; MILLARD, 1997; MACKIE-DAWSON, 1999), pode refletir na dinâmica do nitrogênio e enxofre do solo.

As concentrações de nitrogênio e de enxofre total do material vegetal seco e moído foram determinadas em amostras compostas de parte aérea e raízes de plantas. Essas concentrações foram utilizadas na estimativa das quantidades de nitrogênio e enxofre absorvidos pelo capim-Marandu do solo durante os períodos de crescimento das plantas. O nitrogênio total na planta foi determinado segundo metodologia descrita por Nelson e Sommers (1973). O enxofre total do material vegetal foi determinado utilizando digestão úmida envolvendo os reagentes HNO_3 e HClO_4 (BLANCHARD; REHM; CALDWELL, 1965), com quantificação por turbidimetria (LISLE et al., 1994).

As amostras de solo para determinação de matéria orgânica, de pH, de nitrogênio e enxofre total e fracionamento de enxofre foram secas ao ar, fragmentadas em moinho e passadas em peneira de 2 mm. O teor de matéria orgânica do solo foi determinado pelo método do dicromato sem fonte de aquecimento externo e com quantificação por colorimetria (NELSON; SOMMERS, 1996). O pH do solo foi determinado em solução de CaCl_2 $0,01\text{ mol L}^{-1}$ por meio de potenciometria (THOMAS, 1996). O nitrogênio total do solo foi determinado pelo método de Kjeldahl (BREMNER, 1996).

Os teores de nitrato e amônio do solo foram determinados em amostras úmidas imediatamente após o descongelamento. Após extração com solução de KCl 1 mol L^{-1} , os teores de nitrogênio nítrico e amoniacal do solo foram determinados por destilação e titulação segundo metodologia desenvolvida por Bremner e Keeney (1966).

O fracionamento do enxofre do solo foi realizado de acordo com Tabatabai (1982), obtendo-se quatro frações: enxofre-sulfato (enxofre mineral em solução e adsorvido); enxofre-éster (enxofre orgânico reduzível por HI – enxofre-sulfato); enxofre ligado a carbono (enxofre orgânico reduzível por Raney-Ni) e enxofre orgânico residual (enxofre orgânico não reduzível por HI e nem por liga de Raney-Ni). O enxofre-sulfato foi

extraído com solução de $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e quantificado por turbidimetria (TABATABAI; BREMNER, 1970). O enxofre reduzível por HI foi determinado por redução com solução composta por HI, H_2PO_3 e CH_2O_2 em aparelho de destilação adaptado de Johnson e Nishita (1952). O H_2S formado foi capturado em solução receptora de $\text{NaOAc-Zn}(\text{OAc})_2$, sendo quantificado em espectrofotômetro ajustado em comprimento de onda de 670 nm após a adição das soluções de N,N-Dimetil-p-fenilenediamina sulfato $[(\text{CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4]$ e de sulfato férrico de amônio $(\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$ para o desenvolvimento da cor azul de metileno. O enxofre ligado a carbono foi inicialmente reduzido a H_2S pela liga de Raney-Ni em meio alcalino, no aparelho modificado de Johnson e Nishita (1952), sendo em seguida capturado e quantificado de forma análoga ao descrito para a fração de enxofre reduzível por HI. A fração enxofre-éster foi calculada pela diferença entre o enxofre-reduzível por HI e o enxofre-sulfato.

Para determinação do enxofre total do solo utilizou-se digestão ácida com HNO_3 , HClO_4 e HCl para obtenção do extrato (TABATABAI, 1982). Os demais procedimentos para a quantificação do enxofre total a partir do extrato seguiram o protocolo do enxofre reduzível por HI descrito anteriormente. Subtraindo-se do enxofre total o enxofre reduzível por HI e o enxofre reduzível por Raney-Ni obteve-se a fração de enxofre residual. O enxofre orgânico foi estimado retirando-se o enxofre-sulfato do enxofre total do solo.

As variáveis receberam o recomendado tratamento estatístico, com análise em superfície de resposta por meio do “Statistical Analysis System” (SAS, 2004). Inicialmente, foi realizada a análise de variância para as combinações das doses de nitrogênio e enxofre. Nos casos de significância do teste F para a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre, efetuou-se o estudo de regressão polinomial por meio do procedimento RSREG. Nos casos em que essa interação não foi significativa, efetuou-se o estudo de regressão de primeiro e segundo graus por meio do comando GLM. Utilizou-se o nível de significância de 5 % em todos os testes estatísticos. Os símbolos (*) e (**) nos membros das equações de regressão indicam significância de 5 e 1 %, respectivamente, do correspondente termo matemático.

5.3 Resultados e discussão

A matéria orgânica do solo não foi afetada pela aplicação de doses de nitrogênio e doses de enxofre em qualquer dos três períodos correspondentes ao crescimento do capim-Marandu no solo com e sem plantas. O teor de matéria orgânica do solo cultivado com capim-Marandu variou de 26,3 a 33,5 mg kg⁻¹ nas amostras coletadas à época do primeiro em relação ao terceiro corte da planta, enquanto no solo sem plantas manteve-se próximo da média de 30,6 mg kg⁻¹ durante o transcorrer do experimento (Figura 5.1).

Considerando o solo com capim-Marandu (Figura 5.1), observou-se redução do teor inicial de matéria orgânica (32,1 g kg⁻¹) devido a provável decomposição da fração leve do carbono orgânico do solo após exposição ao ataque microbiano pela ruptura dos macroagregados no processo de preparação do solo (SIX et al., 2002), sendo que o uso de plantas estimula a atividade microbiana por meio da liberação de açúcares e ácidos orgânicos pelo sistema radicular (BERTIN; YANG; WESTON, 2003). Após o primeiro corte e retomada de crescimento das plantas, acredita-se que o aporte de carbono orgânico lábil via raízes mortas (JARVIS; MACDUFF, 1989) e/ou exsudatos radiculares (NGUYEN, 2003) associado ao processo de reagregação do solo (SIX et al., 2002) promoveram o incremento no teor de matéria orgânica do solo (Figura 5.1).

A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre não foi significativa para a variável pH do solo. No entanto, tanto no solo com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, como no solo mantido sem plantas, observou-se efeito significativo da adubação nitrogenada no pH nos três períodos de crescimento da planta forrageira (Figura 5.2). O uso de nitrogênio na adubação aumentou a atividade de íons H⁺ no solo cultivado com capim, sendo que a adição de 300 mg dm⁻³ diminuiu em média o pH do solo em 0,43 unidades (Figura 5.2A). No solo mantido sem plantas, os valores de pH do solo ajustaram-se à regressão polinomial quadrática com o aumento da adubação nitrogenada, verificando-se a distribuição dos valores em torno da média de 4,44, com desvio padrão da média de 0,13 (Figura 5.2B).

Figura 5.1 - Matéria orgânica do solo em função da amostragem na época de corte das plantas e da presença ou não do capim-Marandu

Figura 5.2 - Variação do pH do solo com (A) e sem plantas (B) de capim-Marandu em função da adubação nitrogenada

A maior acidificação do solo adubado com fertilizante nitrogenado e em presença do capim-Marandu (Figura 5.2A) está de acordo com os resultados de Vieira et al., (2008), que verificaram diminuição dos valores de pH do solo com o uso de plantas (quantidade e espécie) na rotação de culturas. Segundo Fenton e Helyar (2002), a acidificação do solo é potencializada na presença de plantas devido à remoção do material vegetal alcalino por ocasião da colheita, sendo que seu retorno ao solo na forma de matéria orgânica tamponaria a acidez ativa.

A absorção de nitrogênio do solo pelas plantas de capim-Marandu foi afetada significativamente pelo suprimento simultâneo de nitrogênio e de enxofre via adubação nos três períodos de crescimento da gramínea (Tabelas 5.1, 5.2, e 5.3). As equações de regressão dessa variável e das demais referentes à nitrogênio na planta e no solo são apresentadas na Tabela 5.4. Outros autores, trabalhando com as espécies de gramíneas *Dactylis glomerata* e *Paspalum notatum*, também verificaram interação significativa da adubação combinada de nitrogênio e de enxofre na absorção do nitrogênio do solo pelas plantas (KOWALENKO, 2004; KALMBACHER et al., 2005).

A importância da adição de enxofre para a absorção de nitrogênio pelo capim pode ser constatada pela comparação entre os tratamentos $N_{200}S_{40}$ e $N_{400}S_0$ nos resultados médios dos três períodos de crescimento da gramínea (Tabelas 5.1, 5.2, e 5.3). Embora a combinação $N_{200}S_{40}$ tenha recebido metade da dose de adubo nitrogenado do que a de $N_{400}S_0$, verificou-se extração de nitrogênio do solo de aproximadamente 56 % a mais pelas plantas na mais baixa dose de nitrogênio em relação à mais alta (114,4 e 73,1 mg kg⁻¹ de solo, respectivamente).

No solo cultivado com a planta forrageira, o teor de nitrogênio total do solo variou linearmente com a adubação nitrogenada no primeiro e terceiro períodos de crescimento do capim-Marandu (Tabela 5.1 e 5.3), enquanto no segundo período de crescimento a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre foi significativa (Tabela 5.2). O nitrogênio total do solo mantido sem plantas aumentou linearmente com o incremento da adubação nitrogenada nos três períodos avaliados (Tabelas 5.1, 5.2, e 5.3).

Tabela 5.1 - Nitrogênio absorvido pela planta (N abs. planta), nitrogênio total (N-total), nitrogênio orgânico (N-org.), nitrogênio amoniacal (N-NH₄) e nitrogênio nítrico (N-NO₃) do solo, com e sem plantas de capim-Marandu, em função da adubação com combinações de doses de nitrogênio (N) e doses de enxofre (S) no primeiro período de crescimento da planta forrageira

N x S	N abs. planta ^a	Solo COM plantas				Solo SEM plantas			
		N-total	N-org.	N-NH ₄	N-NO ₃	N-total	N-org.	N-NH ₄	N-NO ₃
----- mg kg ⁻¹ de solo -----									
N₀ S₀	32,8 (2,0) ^b	915 (69)	882 (95)	24,4 (1,6)	8,3 (6,4)	942 (35)	899 (34)	12,3 (0,5)	30,3 (1,9)
N₀ S₂₀	33,8 (2,4)	925 (20)	913 (17)	8,8 (1,4)	3,6 (2,0)	965 (61)	918 (63)	14,4 (1,3)	33,0 (1,4)
N₀ S₄₀	34,4 (1,5)	870 (8)	859 (8)	10,2 (2,5)	0,9 (0,9)	979 (27)	939 (30)	12,9 (2,6)	26,8 (3,5)
N₁₀₀ S₁₀	70,2 (4,4)	964 (47)	942 (46)	11,9 (3,3)	10,2 (4,9)	1024 (15)	940 (17)	30,5 (4,3)	53,8 (4,8)
N₁₀₀ S₃₀	73,3 (1,9)	878 (31)	866 (33)	8,8 (3,1)	3,5 (2,9)	1024 (39)	939 (32)	27,0 (4,8)	57,8 (5,4)
N₂₀₀ S₀	82,1 (8,6)	949 (20)	881 (56)	25,9 (10,4)	42,4 (28,1)	1113 (39)	990 (38)	46,7 (4,5)	76,5 (4,4)
N₂₀₀ S₂₀	91,8 (6,3)	933 (49)	892 (44)	17,0 (4,0)	24,3 (4,2)	1083 (19)	972 (19)	43,2 (1,3)	67,5 (3,2)
N₂₀₀ S₄₀	96,7 (8,3)	1027 (49)	988 (57)	13,5 (3,2)	25,8 (13,0)	1031 (48)	905 (44)	48,8 (1,6)	77,3 (12,0)
N₃₀₀ S₁₀	93,2 (4,0)	996 (32)	908 (21)	30,1 (4,6)	58,2 (12,4)	1128 (12)	948 (5)	78,8 (5,1)	101,4 (9,3)
N₃₀₀ S₃₀	114,1 (9,9)	1027 (52)	947 (58)	20,3 (4,7)	60,0 (13,6)	1113 (19)	954 (11)	66,0 (4,2)	92,9 (8,0)
N₄₀₀ S₀	108,9 (3,6)	1019 (30)	942 (22)	28,1 (7,7)	48,8 (11,6)	1165 (39)	934 (32)	101,9 (4,5)	129,5 (3,9)
N₄₀₀ S₂₀	119,6 (12,5)	1062 (65)	934 (50)	48,1 (10,0)	79,6 (16,3)	1305 (210)	1064 (296)	101,0 (8,4)	139,8 (21,7)
N₄₀₀ S₄₀	140,9 (9,2)	992 (12)	939 (9)	19,8 (4,4)	32,8 (3,2)	1165 (31)	921 (26)	107,4 (8,2)	136,7 (16,3)
Média	84,0	966	915	20,5	30,6	1080	948	53,1	78,7
Percentual	-	100	94,7	2,1	3,2	100	87,8	4,9	7,3
Efeito N x S ^c	INT (NS)	LIN (N)	n.s	LIN (N)	LIN (N)	LIN (N)	n.s.	QUAD (N)	LIN (N)

^a Valores referentes à parte aérea da planta

^b Valores entre parênteses correspondem ao erro padrão da média ($n = 4$)

^c INT: interação significativa; LIN: ajuste dos resultados ao modelo linear; QUAD: ajuste dos resultados ao modelo quadrático; n.s.: efeitos não significativos; Entre parênteses: fator da combinação nitrogênio e enxofre que influenciou significativamente a variável resposta de acordo com o modelo matemático especificado

Tabela 5.2 - Nitrogênio absorvido pela planta (N abs. planta), nitrogênio total (N-total), nitrogênio orgânico (N-org.), nitrogênio amoniacal (N-NH₄) e nitrogênio nítrico (N-NO₃) do solo, com e sem plantas de capim-Marandu, em função da adubação com combinações de doses de nitrogênio (N) e doses de enxofre (S) no segundo período de crescimento da planta forrageira

N x S	N abs. planta ^a	Solo COM plantas				Solo SEM plantas			
		N-total	N-org.	N-NH ₄	N-NO ₃	N-total	N-org.	N-NH ₄	N-NO ₃
----- mg kg ⁻¹ de solo -----									
N₀ S₀	8,4 (1,1) ^b	816 (31)	802 (28)	3,4 (3,4)	3,9 (2,8)	950 (51)	913 (64)	2,6 (1,3)	34,1 (3,7)
N₀ S₂₀	8,5 (2,0)	831 (21)	830 (21)	0,5 (0,5)	0,3 (0,3)	987 (62)	951 (64)	1,4 (1,4)	34,9 (4,6)
N₀ S₄₀	9,4 (2,0)	883 (43)	882 (43)	0,0 (0,0)	1,0 (1,0)	928 (19)	891 (22)	2,9 (1,9)	33,7 (6,3)
N₁₀₀ S₁₀	49,6 (2,3)	853 (22)	842 (15)	2,1 (0,9)	9,0 (6,5)	1024 (46)	931 (48)	20,3 (1,4)	72,9 (7,6)
N₁₀₀ S₃₀	50,6 (2,0)	868 (39)	866 (37)	0,4 (0,4)	1,8 (1,8)	1024 (39)	914 (41)	26,4 (4,2)	83,3 (5,8)
N₂₀₀ S₀	39,1 (6,5)	957 (14)	846 (34)	12,3 (4,6)	98,8 (21,4)	1076 (7)	896 (14)	65,6 (7,9)	114,3 (9,0)
N₂₀₀ S₂₀	86,8 (4,2)	920 (12)	893 (9)	6,5 (4,2)	20,1 (4,8)	1106 (37)	942 (34)	61,7 (3,7)	102,4 (7,1)
N₂₀₀ S₄₀	90,9 (7,8)	861 (32)	842 (34)	2,7 (1,7)	16,3 (4,3)	1054 (37)	884 (48)	56,2 (7,6)	113,5 (8,5)
N₃₀₀ S₁₀	104,2 (10,8)	1078 (69)	851 (114)	66,5 (20,5)	160,9 (43,7)	1128 (12)	919 (23)	90,4 (7,2)	118,4 (7,6)
N₃₀₀ S₃₀	115,3 (9,2)	913 (43)	851 (24)	20,8 (6,4)	55,2 (7,6)	1158 (58)	909 (66)	98,1 (16,8)	150,6 (22,2)
N₄₀₀ S₀	48,5 (10,2)	1128 (32)	968 (16)	50,3 (8,0)	110,0 (21,8)	1343 (102)	1001 (131)	153,6 (14,3)	188,2 (16,4)
N₄₀₀ S₂₀	125,4 (23,1)	1098 (77)	711 (61)	148,2 (22,1)	238,4 (75,6)	1269 (31)	923 (21)	157,7 (9,3)	188,3 (16,0)
N₄₀₀ S₄₀	135,9 (4,6)	1017 (22)	885 (11)	42,4 (5,2)	89,5 (14,6)	1247 (24)	938 (35)	133,7 (9,0)	175,0 (12,1)
Média	67,1	940	851	27,4	61,9	1100	924	67,0	108,4
Percentual	-	100	90,5	2,9	6,6	100	84,0	6,1	9,9
Efeito N x S ^c	INT (NS)	INT (NS)	n.s.	QUAD (N)	LIN (N)	LIN (N)	n.s.	QUAD (N)	LIN (N)

^a Valores referentes à parte aérea da planta

^b Valores entre parênteses correspondem ao erro padrão da média ($n = 4$)

^c INT: interação significativa; LIN: ajuste dos resultados ao modelo linear; QUAD: ajuste dos resultados ao modelo quadrático; n.s.: efeitos não significativos; Entre parênteses: fator da combinação nitrogênio e enxofre que influenciou significativamente a variável resposta de acordo com o modelo matemático especificado

Tabela 5.3 - Nitrogênio absorvido pela planta (N abs. planta), nitrogênio total (N-total), nitrogênio orgânico (N-org.), nitrogênio amoniacal (N-NH₄) e nitrogênio nítrico (N-NO₃) do solo, com e sem plantas de capim-Marandu, em função da adubação com combinações de doses de nitrogênio (N) e doses de enxofre (S) no terceiro período de crescimento da planta forrageira

N x S	N abs. planta ^a	Solo COM plantas				Solo SEM plantas			
		N-total	N-org.	N-NH ₄	N-NO ₃	N-total	N-org.	N-NH ₄	N-NO ₃
----- mg kg ⁻¹ de solo -----									
N₀ S₀	14,9 (0,8) ^b	855 (39)	853 (39)	1,6 (0,5)	0,0 (0,0)	980 (37)	927 (39)	8,3 (2,3)	44,7 (2,4)
N₀ S₂₀	15,0 (1,1)	815 (22)	803 (25)	0,3 (0,3)	12,1 (11,4)	1004 (65)	959 (67)	4,7 (1,6)	40,2 (6,2)
N₀ S₄₀	23,4 (4,9)	776 (20)	774 (20)	0,3 (0,5)	1,8 (0,9)	1019 (29)	977 (34)	5,0 (0,7)	36,9 (6,6)
N₁₀₀ S₁₀	97,7 (5,6)	815 (31)	814 (32)	0,0 (0,0)	0,9 (0,9)	1066 (16)	921 (2)	42,6 (4,9)	102,7 (12,4)
N₁₀₀ S₃₀	92,5 (6,8)	805 (11)	803 (11)	1,3 (0,6)	0,3 (0,3)	1066 (42)	909 (70)	41,3 (2,5)	115,6 (13,3)
N₂₀₀ S₀	54,6 (7,0)	925 (27)	859 (31)	11,5 (1,3)	54,8 (4,5)	1160 (42)	851 (68)	119,4 (15,6)	189,3 (17,0)
N₂₀₀ S₂₀	159,1 (4,2)	823 (27)	810 (23)	2,3 (1,1)	10,5 (6,3)	1129 (20)	842 (29)	109,7 (3,2)	177,7 (8,0)
N₂₀₀ S₄₀	155,5 (9,0)	955 (90)	946 (90)	2,5 (1,3)	6,5 (2,0)	1074 (50)	804 (49)	102,0 (8,1)	168,1 (13,5)
N₃₀₀ S₁₀	237,2 (11,5)	957 (40)	926 (39)	8,8 (1,4)	22,0 (10,7)	1176 (13)	784 (12)	169,6 (4,0)	222,6 (8,8)
N₃₀₀ S₃₀	239,8 (12,5)	909 (29)	896 (28)	4,5 (2,1)	8,3 (2,9)	1160 (20)	789 (39)	158,7 (9,3)	212,1 (18,9)
N₄₀₀ S₀	62,0 (9,3)	1098 (63)	840 (18)	79,2 (17,6)	179,0 (63,1)	1215 (41)	708 (57)	234,4 (9,4)	272,2 (11,3)
N₄₀₀ S₂₀	242,0 (12,0)	996 (35)	917 (47)	20,0 (1,0)	58,8 (12,4)	1364 (222)	875 (220)	227,0 (16,0)	261,9 (23,3)
N₄₀₀ S₄₀	290,4 (8,5)	1051 (203)	1011 (200)	13,2 (4,3)	27,3 (2,7)	1215 (32)	702 (24)	236,1 (4,1)	277,2 (7,2)
Média	129,5	906	866	11,1	29,4	1125	850	112,2	163,2
Percentual	-	100	95,6	1,2	3,2	100	75,6	9,9	14,5
Efeito N x S ^c	INT (NS)	LIN (N)	n.s.	INT (NS)	INT (NS)	LIN (N)	LIN (N)	QUAD (N)	QUAD (N)

^a Valores referentes à parte aérea + raízes da planta

^b Valores entre parênteses correspondem ao erro padrão da média ($n = 4$)

^c INT: interação significativa; LIN: ajuste dos resultados ao modelo linear; QUAD: ajuste dos resultados ao modelo quadrático; n.s.: efeitos não significativos; Entre parênteses: fator da combinação nitrogênio e enxofre que influenciou significativamente a variável resposta de acordo com o modelo matemático especificado

Tabela 5.4 – Equações de regressão referentes às variáveis de nitrogênio na planta e no solo avaliadas na época do primeiro, segundo e terceiro cortes das plantas de capim-Marandu

VARIÁVEL ^a		EQUAÇÃO DE REGRESSÃO ^b		R ²
----- PRIMEIRO CORTE -----				
N abs. planta		Y = 35,37 + 0,294**N – 0,0349S – 0,000302**N ² + 0,00138S ² + 0,00205*NS		0,88
N-total	CP	Y = 901,20 + 0,323**N		0,97
	SP	Y = 997,70 + 0,638**N		0,99
N-NH ₄	CP	Y = 11,54 + 0,411**N		0,84
	SP	Y = 13,53 + 0,110**N + 0,000286**N ²		0,99
N-NO ₃	CP	Y = 1,50 + 0,145**N		0,91
	SP	Y = 27,89 + 0,253**N		0,99
----- SEGUNDO CORTE -----				
N abs. planta		Y = 0,744 + 0,318**N + 1,980**S – 0,000445**N ² – 0,0496**S ² + 0,00523**NS		0,86
N-total	CP	Y = 818,30 + 0,350N + 1,581S + 0,00127**N ² - 0,00119S ² – 0,129**NS		0,66
	SP	Y = 940,20 + 0,795**N		0,96
N-NH ₄	CP	Y = 0,829 – 0,00643N + 0,000597*N ²		0,97
	SP	Y = 2,03 + 0,195**N + 0,000422**N ²		0,99
N-NO ₃	CP	Y = -16,38 + 0,377**N		0,92
	SP	Y = 36,37 + 0,360**N		0,98
----- TERCEIRO CORTE -----				
N abs. planta		Y = -0,226 + 0,502**N + 4,87**S – 0,000685*N ² – 0,127**S ² + 0,0130**NS		0,89
N-total	CP	Y = 794,50 + 0,550**N		0,92
	SP	Y = 995,40 + 0,642**N		0,99
N-org.	SP	Y = 946,82 – 0,502**N		0,99
N-NH ₄	CP	Y = 1,74 + 0,0159N – 0,776*S + 0,000315**N ² + 0,0237**S ² – 0,00327**NS		0,75
	SP	Y = 4,08 + 0,441**N + 0,000326*N ²		0,99
N-NO ₃	CP	Y = 8,12 + 0,0852N – 1,804*S + 0,000642**N ² + 0,0522*S ² – 0,00819**NS		0,70
	SP	Y = 40,67 + 0,755**N – 0,000462*N ²		0,99

^a N abs. planta = nitrogênio absorvido pela planta do solo; N-total = nitrogênio total do solo; N-org. = nitrogênio orgânico do solo; N-NH₄ = nitrogênio amoniacal do solo; N-NO₃ = nitrogênio nítrico do solo; CP = solo com plantas; SP = solo sem plantas

^b Os símbolos (*) e (**) nos membros das equações de regressão indicam significância de 5 e 1 %, respectivamente, do correspondente termo matemático

A fração orgânica de nitrogênio não foi alterada pela aplicação de nitrogênio e de enxofre no solo com plantas (Tabelas 5.1, 5.2, e 5.3). No entanto, a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre foi significativa para as concentrações das formas minerais nitrato e amônio nesse solo (Tabela 5.3), bem como a adubação nitrogenada isolada (Tabelas 5.1 e 5.2). Como o nitrogênio orgânico no solo não variou, a distribuição e as concentrações do nitrogênio mineral nas frações nítrica e amoniacal são parcialmente reflexo da taxa de absorção deste elemento pelas plantas (HAWKINS; BOUKCIM; PLASSARD, 2008), relacionando-se diretamente com a produção vegetal (RAMBO et al., 2007).

Em geral, as concentrações de nitrogênio nas formas nítrica e amoniacal do solo mantido sem plantas variaram em função das doses de nitrogênio aplicadas nos três períodos correspondentes aos crescimento do capim-Marandu (Tabelas 5.1, 5.2, e 5.3). O nitrogênio orgânico nesse solo foi afetado pelo uso de nitrogênio na adubação no período correspondente ao terceiro crescimento da gramínea (Tabela 5.3), sendo que sua concentração diminuiu com o aumento das doses de nitrogênio. Possivelmente, a mineralização de parte do nitrogênio orgânico foi devida à utilização do carbono orgânico ligado ao nitrogênio na matéria orgânica nativa do solo como fonte de carbono para a atividade e crescimento microbiano (GHANI; McLAREN; SWIFT, 1992; MCGILL; COLE, 1981), uma vez que a concentração de nitrogênio mineral do solo era expressiva (Tabela 5.3). Também, a mineralização de nitrogênio seguida pelo processo de amonificação (FENTON; HELYAR, 2002) pode explicar, em parte, o leve aumento no pH do solo a partir da dose de nitrogênio de 200 mg dm^{-3} (Figura 5.2B). Observa-se que, no solo sem plantas, a fração mineral de nitrogênio chegou a representar aproximadamente 25 % do nitrogênio total do solo (Tabela 5.3), cujo valor encontra-se bem acima dos 5 % normalmente verificados em solos agrícolas sem restrição de oxigênio (BREMNER, 1996), e que se confirma pelos resultados do solo sustentando capim-Marandu, onde a fração mineral média variou de 4,3 a $9,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de solo (Tabelas 5.1, 5.2, e 5.3).

A razão nitrogênio nítrico: nitrogênio amoniacal média do solo com e sem plantas de capim-Marandu foi de 2,1:1 e 1,5:1, respectivamente (Tabelas 5.1, 5.2, e 5.3). Esses resultados discordam daqueles de Lark et al. (2004), que encontraram relação nitrato: amônio variando de 10:1 a 20:1, de acordo com a posição no transecto em solo agrícola

de clima temperado. No entanto, esses resultados concordam com Rambo et al. (2007), que trabalhando com solo do Brasil subtropical cultivado com milho, verificaram teores similares de nitrato e amônio no solo. Nesse contexto, como a relação nitrato: amônio não variou substancialmente entre o solo com e sem capim (Tabelas 5.1, 5.2, e 5.3), postula-se que a *Brachiaria brizantha* cv. Marandu não atuou na inibição dos processos de nitrificação (PURCHASE, 1974; ISHIKAWA et al., 2003), sendo o acúmulo de amônio no solo provavelmente favorecido pelo baixo pH do meio (Figura 5.2).

Observa-se que a intensificação da adubação nitrogenada sem a adequada suplementação de adubo sulfatado pode provocar acúmulo de altos teores de nitrato também no solo cultivado com plantas (Tabelas 5.2 e 5.3), o qual sob condições de campo pode ser facilmente lixiviado e contaminar o lençol freático (BABIKER et al., 2004). No terceiro período de crescimento do capim adubado com a dose de nitrogênio de 400 mg dm^{-3} (Tabela 5.3), verificou-se que o não fornecimento de enxofre na adubação resultou em incremento no teor de nitrato do solo de 6,5 vezes comparado àquele com a aplicação de 40 mg dm^{-3} de enxofre ($179,0$ e $27,3 \text{ mg kg}^{-1}$ de solo, respectivamente). Brown et al. (2000), trabalhando com pastagens de *Lolium perenne* adubadas com altas doses de nitrogênio ($450 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$), constataram que a aplicação de enxofre na dose de $38 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ reduziu o nitrato lixiviado no solo em 72 e 58 %, durante os dois anos experimentais.

De modo análogo ao nitrogênio, para o enxofre total absorvido do solo pela planta foi significativa a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre, no solo coletado ao final de cada um dos três períodos de crescimento do capim-Marandu (Tabelas 5.5, 5.6 e 5.7). Na Tabela 5.8 são apresentados os respectivos modelos de regressão dessa variável e das outras referentes à enxofre na planta e no solo. Levando-se em consideração todos os períodos de crescimento do capim, a adição de nitrogênio de 400 mg dm^{-3} aproximadamente triplicou a absorção de enxofre pelas plantas supridas com enxofre de 40 mg dm^{-3} ($42,3$ e $13,4 \text{ mg kg}^{-3}$ de solo, respectivamente). Kalmbacher et al. (2005), também verificaram significância da interação nitrogênio x enxofre na absorção de enxofre do solo pelo *Paspalum notatum* adubado com quatro doses de nitrogênio (0 , 85 , 170 e $255 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) combinadas com quatro doses de enxofre (0 , 95 , 190 e $285 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$).

Na caracterização do enxofre no solo coletado em área de pastagem de *Brachiaria decumbens* seguido pelo cultivo ou não de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e adubação com doses de nitrogênio e de enxofre, constatou-se que o enxofre total do solo variou de 115 a 230 mg kg⁻¹ de solo (Tabelas 5.5, 5.6 e 5.7). Esses resultados estão abaixo dos valores encontrados por Solomon et al. (2001) para solos da Etiópia (520 a 1082 mg kg⁻¹ de solo) e por Nguyen e Goh (1992) para solos da Nova Zelândia (326 a 1325 mg kg⁻¹ de solo), porém concordam com os teores de enxofre total determinados em solos brasileiros (NEPTUNE; TABATABAI; HANWAY, 1975; LILIENFEIN et al., 2003) e em solos norte-americanos (WANG et al., 2006).

A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre, para o solo ocupado com capim-Marandu, foi significativa para o enxofre total do solo amostrado no final do terceiro período de crescimento das plantas (Tabela 5.7), enquanto no solo mantido sem plantas esta variável foi linearmente incrementada com a aplicação de doses de enxofre na mesma época de amostragem. Ao contribuir com 12 a 30 % do enxofre total do solo, o enxofre-sulfato foi aumentado de forma linear pela adubação sulfatada, no solo com e sem plantas, em cada um dos três períodos de crescimento dessa gramínea forrageira (Tabelas 5.5, 5.6 e 5.7), excetuando-se as amostras do solo ao final do terceiro período de crescimento quando a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre foi significativa para o enxofre-sulfato do solo com plantas (Tabela 5.7). Em diversos trabalhos foram relatados aumentos nos teores de enxofre-sulfato do solo mediante o uso de adubação com enxofre (CASTELLANO; DICK, 1990; NGUYEN; GOH, 1992; YANG et al., 2007).

Tabela 5.5 - Enxofre absorvido pela planta (S abs. planta), enxofre total (S-total), enxofre orgânico (S-org.), enxofre-sulfato (S-SO₄), enxofre-éster (S-éster), enxofre ligado a carbono (S-lig. C) e enxofre orgânico residual (S-org. residual) do solo, com e sem plantas de capim-Marandu, em função da adubação com combinações de doses de nitrogênio (N) e doses de enxofre (S) no primeiro período de crescimento da planta forrageira

N x S	S abs. planta ^a	Solo COM plantas						Solo SEM plantas					
		S-total	S-SO ₄	S-org.	S-éster	S-lig. C	S-org. residual	S-total	S-SO ₄	S-org.	S-éster	S-lig. C	S-org. residual
----- mg kg ⁻¹ de solo -----													
N₀ S₀	2,4 (0,3) ^b	157 (9)	9 (2)	148 (9)	51 (4)	31,9 (1,6)	65 (12)	178 (7)	7 (1)	171 (7)	43 (2)	28,3 (1,3)	100 (6)
N₀ S₂₀	2,8 (0,2)	209 (20)	25 (5)	184 (22)	50 (2)	29,0 (1,4)	105 (22)	177 (14)	23 (5)	154 (11)	42 (11)	26,8 (0,5)	85 (16)
N₀ S₄₀	2,7 (0,3)	207 (12)	36 (4)	171 (11)	51 (8)	27,6 (1,4)	92 (17)	159 (8)	34 (8)	134 (8)	40 (6)	26,8 (0,8)	58 (14)
N₁₀₀ S₁₀	4,2 (0,3)	219 (36)	16 (2)	203 (36)	60 (5)	28,3 (3,0)	115 (32)	181 (43)	14 (3)	167 (43)	48 (6)	27,1 (0,9)	92 (41)
N₁₀₀ S₃₀	5,4 (0,1)	181 (17)	36 (4)	145 (19)	49 (6)	27,7 (1,6)	68 (12)	180 (4)	26 (5)	154 (6)	37 (8)	26,1 (0,2)	91 (8)
N₂₀₀ S₀	3,6 (0,2)	209 (36)	5 (1)	204 (36)	55 (7)	29,8 (1,9)	119 (36)	153 (9)	11 (3)	142 (9)	44 (4)	25,5 (0,2)	72 (10)
N₂₀₀ S₂₀	5,0 (0,4)	153 (22)	16 (2)	137 (24)	50 (4)	31,4 (2,3)	56 (24)	154 (11)	34 (12)	120 (14)	47 (6)	25,4 (0,1)	48 (13)
N₂₀₀ S₄₀	7,8 (1,1)	159 (23)	37 (2)	122 (25)	45 (6)	28,4 (1,7)	49 (21)	188 (11)	46 (8)	142 (7)	40 (7)	25,7 (0,4)	76 (1)
N₃₀₀ S₁₀	4,0 (0,2)	188 (48)	14 (2)	174 (50)	63 (6)	25,8 (0,9)	85 (46)	141 (11)	18 (1)	123 (11)	46 (11)	27,4 (0,8)	50 (5)
N₃₀₀ S₃₀	6,0 (0,5)	161 (11)	17 (3)	144 (10)	58 (15)	26,8 (1,0)	59 (4)	164 (31)	23 (3)	141 (31)	42 (8)	26,0 (0,4)	73 (32)
N₄₀₀ S₀	3,8 (0,5)	155 (13)	8 (2)	147 (12)	59 (6)	26,4 (0,8)	62 (14)	157 (20)	7 (1)	150 (21)	40 (2)	26,7 (0,5)	83 (19)
N₄₀₀ S₂₀	5,7 (0,7)	162 (15)	24 (5)	138 (13)	45 (9)	26,3 (1,2)	67 (20)	165 (17)	21 (3)	144 (15)	52 (9)	26,6 (0,7)	65 (14)
N₄₀₀ S₄₀	7,4 (0,5)	177 (19)	30 (6)	147 (14)	40 (6)	26,7 (0,2)	80 (19)	203 (39)	30 (7)	173 (35)	41 (4)	26,6 (0,7)	105 (6)
Média	4,7	180	21	159	52	28,2	79	169	23	147	43	26,5	77
Percentual	-	100	12	88	29	16	43	100	13	87	25	16	46
Efeito N x S ^c	INT (NS)	n.s.	LIN (S)	n.s.	n.s.	LIN (N)	n.s.	n.s.	LIN (S)	n.s.	n.s.	n. s.	n.s.

^a Valores referentes à parte aérea da planta

^b Valores entre parênteses correspondem ao erro padrão da média ($n = 4$)

^c INT: interação significativa; LIN: ajuste dos resultados ao modelo linear; QUAD: ajuste dos resultados ao modelo quadrático; n.s.: efeitos não significativos; Entre parênteses: fator da combinação nitrogênio e enxofre que influenciou significativamente a variável resposta de acordo com o modelo matemático especificado

Tabela 5.6 - Enxofre absorvido pela planta (S abs. planta), enxofre total (S-total), enxofre orgânico (S-org.), enxofre-sulfato (S-SO₄), enxofre-éster (S-éster), enxofre ligado a carbono (S-lig. C) e enxofre orgânico residual (S-org. residual) do solo, com e sem plantas de capim-Marandu, em função da adubação com combinações de doses de nitrogênio (N) e doses de enxofre (S) no segundo período de crescimento da planta forrageira

N x S	S abs. planta ^a	Solo COM plantas						Solo SEM plantas					
		S-total	S-SO ₄	S-org.	S-éster	S-lig. C	S-org. residual	S-total	S-SO ₄	S-org.	S-éster	S-lig. C	S-org. residual
		----- mg kg ⁻¹ de solo -----											
N₀ S₀	0,5 (0,0) ^b	150 (34)	9 (2)	141 (33)	53 (3)	30,0 (3,1)	58 (44)	134 (17)	9 (1)	125 (18)	56 (11)	28,4 (1,7)	41 (14)
N₀ S₂₀	0,7 (0,0)	177 (21)	26 (5)	151 (20)	49 (7)	28,6 (1,4)	73 (24)	170 (17)	28 (9)	142 (8)	47 (15)	30,0 (2,0)	65 (10)
N₀ S₄₀	1,3 (0,3)	200 (28)	62 (15)	138 (30)	44 (6)	28,6 (1,7)	65 (27)	174 (32)	33 (7)	141 (32)	36 (11)	28,7 (0,2)	76 (32)
N₁₀₀ S₁₀	2,9 (0,1)	125 (16)	14 (4)	111 (14)	48 (7)	28,4 (1,9)	35 (13)	158 (28)	17 (3)	141 (28)	39 (9)	27,3 (0,4)	75 (26)
N₁₀₀ S₃₀	4,2 (0,3)	136 (17)	43 (10)	93 (27)	35 (13)	32,1 (1,4)	26 (15)	178 (22)	30 (2)	148 (20)	49 (13)	26,4 (0,5)	73 (25)
N₂₀₀ S₀	0,6 (0,1)	153 (20)	7 (1)	146 (19)	58 (11)	29,9 (1,6)	58 (14)	157 (21)	8 (1)	149 (21)	46 (9)	26,8 (0,6)	76 (14)
N₂₀₀ S₂₀	4,8 (0,6)	190 (16)	21 (3)	169 (19)	43 (2)	29,9 (0,8)	96 (17)	137 (7)	30 (3)	107 (9)	40 (4)	28,2 (1,1)	39 (7)
N₂₀₀ S₄₀	6,0 (0,2)	195 (19)	47 (8)	148 (26)	36 (6)	26,7 (0,2)	85 (18)	153 (14)	45 (9)	108 (10)	28 (7)	29,0 (1,7)	51 (6)
N₃₀₀ S₁₀	3,1 (0,2)	172 (18)	23 (2)	149 (18)	48 (4)	27,4 (1,2)	74 (16)	144 (12)	17 (1)	127 (13)	37 (6)	30,2 (1,2)	60 (13)
N₃₀₀ S₃₀	6,5 (0,8)	146 (26)	20 (2)	116 (35)	44 (14)	27,0 (0,8)	45 (14)	153 (20)	46 (7)	107 (13)	32 (7)	29,9 (1,7)	45 (19)
N₄₀₀ S₀	0,8 (0,2)	126 (31)	5 (1)	121 (34)	51 (7)	26,1 (0,4)	44 (27)	132 (7)	9 (1)	123 (17)	47 (2)	29,0 (0,9)	47 (10)
N₄₀₀ S₂₀	5,6 (0,4)	145 (14)	27 (10)	118 (13)	48 (5)	25,7 (0,3)	44 (21)	165 (13)	26 (2)	139 (14)	43 (6)	28,9 (1,1)	67 (13)
N₄₀₀ S₄₀	7,3 (0,6)	173 (29)	42 (12)	130 (21)	39 (18)	26,3 (0,6)	65 (41)	158 (18)	51 (4)	107 (16)	31 (6)	27,3 (0,2)	49 (12)
Média	3,4	161	27	133	46	28,2	59	155	27	128	41	28,5	59
Percentual	-	100	17	83	29	17	37	100	17	83	27	18	38
Efeito N x S ^c	INT (NS)	n.s.	LIN (S)	n.s.	n.s.	LIN (N)	n.s.	n.s.	LIN (S)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

^a Valores referentes à parte aérea da planta

^b Valores entre parênteses correspondem ao erro padrão da média ($n = 4$)

^c INT: interação significativa; LIN: ajuste dos resultados ao modelo linear; QUAD: ajuste dos resultados ao modelo quadrático; n.s.: efeitos não significativos; Entre parênteses: fator da combinação nitrogênio e enxofre que influenciou significativamente a variável resposta de acordo com o modelo matemático especificado

Tabela 5.7 - Enxofre absorvido pela planta (S abs. planta), enxofre total (S-total), enxofre orgânico (S-org.), enxofre-sulfato (S-SO₄), enxofre-éster (S-éster), enxofre ligado a carbono (S-lig. C) e enxofre orgânico residual (S-org. residual) do solo, com e sem plantas de capim-Marandu, em função da adubação com combinações de doses de nitrogênio (N) e doses de enxofre (S) no terceiro período de crescimento da planta forrageira

N x S	S abs. planta ^a	Solo COM plantas						Solo SEM plantas					
		S-total	S-SO ₄	S-org.	S-éster	S-lig. C	S-org. residual	S-total	S-SO ₄	S-org.	S-éster	S-lig. C	S-org. residual
----- mg kg ⁻¹ de solo -----													
N₀ S₀	3,9 (0,2) ^b	122 (24)	9 (1)	113 (25)	72 (10)	27,4 (1,0)	14 (13)	164 (22)	6 (1)	158 (22)	56 (18)	26,4 (0,2)	76 (18)
N₀ S₂₀	6,3 (0,2)	175 (18)	25 (3)	150 (17)	75 (10)	28,7 (1,3)	46 (16)	214 (62)	59 (9)	155 (53)	39 (9)	27,9 (0,8)	88 (51)
N₀ S₄₀	9,4 (1,2)	213 (29)	80 (7)	133 (33)	53 (2)	27,1 (1,2)	53 (10)	225 (34)	97 (15)	128 (26)	29 (12)	27,1 (0,6)	72 (18)
N₁₀₀ S₁₀	22,3 (2,8)	131 (26)	15 (4)	116 (26)	64 (9)	27,3 (1,5)	25 (25)	168 (12)	26 (4)	142 (10)	56 (8)	27,6 (0,3)	58 (6)
N₁₀₀ S₃₀	20,1 (2,2)	197 (40)	50 (7)	147 (33)	34 (11)	29,6 (3,2)	83 (44)	179 (19)	77 (12)	102 (15)	34 (3)	28,3 (1,2)	40 (6)
N₂₀₀ S₀	3,8 (0,8)	115 (9)	9 (2)	105 (9)	59 (15)	29,9 (2,4)	17 (9)	142 (11)	9 (1)	133 (11)	73 (6)	28,3 (1,0)	32 (9)
N₂₀₀ S₂₀	23,2 (2,7)	132 (8)	21 (4)	111 (7)	77 (13)	30,2 (2,0)	4 (3)	179 (32)	82 (10)	97 (33)	47 (10)	28,6 (1,5)	21 (16)
N₂₀₀ S₄₀	21,3 (3,7)	230 (8)	89 (9)	141 (12)	52 (10)	32,4 (2,3)	57 (6)	228 (32)	106 (7)	122 (37)	43 (10)	28,4 (1,8)	51 (18)
N₃₀₀ S₁₀	15,0 (1,2)	161 (12)	7 (1)	154 (12)	73 (12)	28,3 (1,5)	53 (8)	167 (7)	30 (2)	137 (7)	78 (12)	28,3 (1,1)	31 (16)
N₃₀₀ S₃₀	24,7 (4,8)	159 (9)	24 (4)	135 (8)	75 (7)	27,1 (0,8)	33 (5)	204 (10)	67 (9)	137 (9)	47 (15)	27,9 (1,0)	62 (18)
N₄₀₀ S₀	3,5 (0,6)	181 (27)	7 (3)	174 (24)	65 (3)	27,0 (0,3)	82 (37)	145 (12)	9 (0)	136 (12)	69 (10)	27,6 (0,9)	39 (5)
N₄₀₀ S₂₀	16,8 (2,9)	145 (22)	18 (3)	127 (24)	65 (3)	29,9 (2,3)	32 (24)	197 (14)	51 (6)	146 (13)	38 (9)	26,6 (0,6)	81 (16)
N₄₀₀ S₄₀	27,6 (3,7)	153 (6)	48 (5)	105 (1)	71 (12)	31,1 (1,5)	3 (2)	205 (16)	98 (5)	107 (14)	37 (9)	26,4 (0,6)	44 (13)
Média	15,2	163	31	132	64	28,9	39	186	55	131	50	27,6	53
Percentual	-	100	19	81	39	18	24	100	30	70	27	15	28
Efeito N x S ^C	INT (NS)	INT (NS)	INT (NS)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	LIN (S)	LIN (S)	n.s.	LIN (S)	n.s.	n.s.

^a Valores referentes à parte aérea + raízes da planta

^b Valores entre parênteses correspondem ao erro padrão da média ($n = 4$)

^c INT: interação significativa; LIN: ajuste dos resultados ao modelo linear; QUAD: ajuste dos resultados ao modelo quadrático; n.s.: efeitos não significativos; Entre parênteses: fator da combinação nitrogênio e enxofre que influenciou significativamente a variável resposta de acordo com o modelo matemático especificado

Tabela 5.8 – Equações de regressão referentes às variáveis de enxofre na planta e solo avaliadas na época do primeiro, segundo e terceiro cortes das plantas de capim-Marandu

VARIÁVEL ^a		EQUAÇÃO DE REGRESSÃO ^b	R ²
----- PRIMEIRO CORTE -----			
S abs. planta		$Y = 2,280 + 0,0149^{**}N + 0,0129S - 0,0000312^{**}N^2 + 0,000387S^2 - 0,000206^{**}NS$	0,72
S-SO ₄	CP	$Y = 10,86 + 1,017^{**}S$	0,94
	SP	$Y = 9,25 + 0,664^{**}S$	0,94
S-lig. C	CP	$Y = 29,72 - 0,00774^{**}N$	0,56
----- SEGUNDO CORTE -----			
S abs. planta		$Y = -0,0923 + 0,0136^{**}N + 0,141^{**}S - 0,0000304^{**}N^2 + 0,000269^{**}S^2 + 0,000368^{**}NS$	0,89
S-SO ₄	CP	$Y = 8,93 + 1,445^{**}S$	0,98
	SP	$Y = 12,62 + 1,241^{**}S$	0,99
S-lig. C	CP	$Y = 30,41 - 0,0101^{**}N$	0,88
----- TERCEIRO CORTE -----			
S abs. planta		$Y = 3,74 + 0,0579^{**}N + 0,647^{**}S - 0,000160^{**}N^2 - 0,0134^{**}S^2 + 0,00127^{**}NS$	0,67
S-total	CP	$Y = 113,59 + 0,115N - 1,745S + 0,00000193N^2 - 0,0322S^2 - 0,00755^{**}NS$	0,42
	SP	$Y = 152,78 + 1,658^{**}S$	0,92
S-SO ₄	CP	$Y = 8,18 + 0,0749N + 0,144S - 0,000168N^2 + 0,0787^{**}S^2 - 0,00359^{**}NS$	0,88
	SP	$Y = 9,57 + 2,279^{**}S$	0,97
S-éster	SP	$Y = 71,94 - 0,949^{**}S$	0,79

^a S abs. planta = enxofre absorvido pela planta; S-total = enxofre total do solo; S-SO₄ = enxofre-sulfato do solo; S-lig C = enxofre ligado a carbono do solo; S-éster = enxofre-éster do solo; CP = solo com plantas; SP = solo sem plantas

^b Os símbolos (*) e (**) nos membros das equações de regressão indicam significância de 5 e 1 %, respectivamente, do correspondente termo matemático

Analogamente à matéria orgânica do solo (Figura 5.1), para o teor de enxofre orgânico total não foi significativa a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre, assim como o teor de enxofre orgânico residual também não foi alterado pelas combinações de nitrogênio e de enxofre na adubação (Tabelas 5.5, 5.6 e 5.7). A fração enxofre-éster diminuiu linearmente no solo sem plantas com a adição de enxofre no solo coletado ao final do período correspondente ao terceiro crescimento do capim (Tabela 5.7). Esse resultado contradiz o modelo de ciclagem de enxofre no solo proposto por

McGill e Cole (1981), segundo o qual haveria uma diminuição da fração enxofre-éster com o decréscimo nos teores totais de enxofre-sulfato do solo. No entanto, Ghani, McLaren e Swift (1992) também verificaram resultados opostos aos propostos pelo referido modelo ao estudarem solos incubados sem plantas com fontes de carbono, nitrogênio e enxofre, observando aumentos na fração enxofre-éster não relacionados ao teor de enxofre-sulfato no solo.

O enxofre ligado a carbono (aminoácidos) diminuiu linearmente no solo com plantas com o uso da adubação nitrogenada no primeiro e segundo períodos de crescimento do capim-Marandu (Tabelas 5.5 e 5.6). Provavelmente o aumento na disponibilidade de nitrogênio do solo com as doses aplicadas (Tabelas 5.1 e 5.2) tenha intensificado a mineralização de parte da fração de enxofre ligado a carbono por ação dos microrganismos do solo (Tabelas 5.5 e 5.6).

De modo geral todas as frações de enxofre orgânico do solo variaram em função do tempo (Tabelas 5.5, 5.6 e 5.7). Comparando-se essas variações entre o solo com e sem plantas nos três períodos de crescimento do capim-Marandu, constata-se que a fração de enxofre orgânico residual diminuiu sua participação na composição do enxofre total do solo, independente do cultivo ou não do capim. Por sua vez, a fração enxofre-éster aumentou sua contribuição no enxofre total quando o solo foi cultivado com a *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

A influência da planta na fração de enxofre-éster do solo ainda é um assunto sem consenso da pesquisa. Alguns estudos constataram que o uso de plantas pode alterar esta fração de enxofre do solo (HU et al., 2002; GOH; PAMIDI, 2003), enquanto o contrário também foi demonstrado (CASTELLANO; DICK, 1990). Em adição, trabalhos com fertilizantes contendo ^{35}S demonstraram que o enxofre foi primeiramente incorporado na fração enxofre-éster (FRENEY; MELVILLE; WILLIAMS, 1975; MAYNARD; STEWART; BETTANY, 1985; GHANI; McLAREN; SWIFT, 1993), sendo esse processo acelerado pelo suprimento de fontes de carbono (glicose, celulose, exsudatos) para os microrganismos do solo (GHANI; McLAREN; SWIFT, 1992, 1993; ERIKSEN, 1997; KERTESZ; MIRLEAU, 2004). Desse modo, acredita-se que o cultivo do capim-Marandu estimulou a atividade microbiana (KERTESZ; MIRLEAU, 2004) ao incrementar o teor de carbono orgânico do solo (Figura 5.1), provavelmente por meio de

raízes mortas (JARVIS; MACDUFF, 1989) e/ou exsudatos (NGUYEN, 2003), o que promoveu a incorporação do enxofre do fertilizante na fração com ligação éster (Tabelas 5.5, 5.6 e 5.7).

Segundo McGill e Cole (1981), a magnitude da fração total de enxofre do solo ligado a carbono (enxofre ligado a carbono reduzível pela liga de Raney-Ni + enxofre orgânico residual) é inversamente proporcional à relação nitrogênio total: enxofre total do solo, pois o nitrogênio está mais estreitamente ligado à referida fração. Em adição, de modo contrário ao postulado por alguns trabalhos (TABATABAI, 1982, 2005), a fração enxofre residual tem-se mostrado menos estável no solo do que a fração enxofre ligado a carbono (CASTELLANO; DICK, 1990; HU et al., 2002). No presente estudo, o padrão de variação com o tempo do enxofre orgânico residual (Tabelas 5.5, 5.6 e 5.7) aparentemente corrobora esta teoria, destacando-se que a relação nitrogênio total: enxofre total do solo variou, nos correspondentes períodos de crescimento da gramínea, na seguinte ordem: 5,36, 5,83 e 5,55 (com plantas); e 6,39, 7,09 e 6,04 (sem plantas), respectivamente. De acordo com Castellano e Dick (1990) e McGill e Cole (1981), o enxofre orgânico da fração residual pode incrementar a fração enxofre-sulfato do solo e/ou ser intraconvertido por microrganismos (KERTESZ; MIRLEAU, 2004) para compor a fração enxofre-éster.

Da variação das frações orgânicas de enxofre do solo durante os três períodos de crescimento do capim (Tabelas 5.5, 5.6 e 5.7), depende-se que parte do enxofre demandado para a nutrição da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu foi suprido pela fração de enxofre orgânico residual. Freney, Melville e Williams (1975), trabalhando com matéria orgânica do solo marcada com ^{35}S , ressaltou que embora todas as frações orgânicas contribuam com enxofre para a planta (LI; LIN; ZHOU, 2001), cerca de 60 % do enxofre do solo absorvido foi oriundo da fração total de enxofre ligado a carbono (enxofre ligado a carbono reduzível pela liga de Raney-Ni + enxofre orgânico residual).

5.4 Conclusões

O uso combinado de doses de nitrogênio e de enxofre na adubação da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu não promoveu variação no teor de matéria orgânica do solo. Entretanto, a associação entre adubo nitrogenado e cultivo do capim-Marandu promoveu a acidificação do solo durante os ciclos de crescimento da planta.

A extração dos nutrientes nitrogênio e enxofre do solo pelo capim-Marandu mostrou significância para a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre. Altas doses de nitrogênio combinadas com baixas doses de enxofre na adubação diminuíram consideravelmente o nitrogênio absorvido pelas plantas, o que culminou com altos teores de nitrogênio na forma nítrica no solo sujeitos à lixiviação. De maneira geral, os teores de nitrogênio total e das formas nítrica e amoniacal do solo variaram como a resultante do nitrogênio adicionado via adubação e da remoção pelas plantas.

A adubação com enxofre promoveu aumentos lineares no enxofre-sulfato do solo que se refletiram no aumento da fração enxofre-éster no solo cultivado com o capim-Marandu. O enxofre orgânico total do solo não variou com as aplicações de nitrogênio e enxofre, mas houve interconversão do enxofre entre as frações orgânicas, de acordo com o tempo. A fração enxofre orgânico residual do solo mostrou-se como potencial fonte de enxofre na nutrição da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

Referências

- BABIKER, I.S.; MOHAMED, M.A.A.; TERAQ, H.; KATO, K.; OHTA, K. Assessment of groundwater contamination by nitrate leaching from intensive vegetable cultivation using geographical information system. **Environment International**, Oxford, v. 29, p. 1009-1017, 2004.
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; AMADO, T.J.C.; MARTIN-NETO, L.; FERNANDES, S.V. Organic matter storage in a sandy clay loam Acrisol affected by tillage and cropping systems in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 54, p. 101-109, 2000.
- BERTIN, C.; YANG, X.H.; WESTON, L.A. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 256, p. 67-83, 2003.

BLANCHARD, R.W.; REHM, G.; CALDWELL, A.C. Sulfur in plant material by digestion with nitric and perchloric acid. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 29, p. 71-72, 1965.

BONFIM-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A.; SILVA, T.J.A. Nitrogênio e enxofre na produção e no uso de água pelo capim-Braquiária em degradação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 309-317, 2007.

BREMNER, J.M. Nitrogen total. In: SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T.; SUMMER, M.E. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2nd ed. Madison: SSSA; ASA, 1996. pt. 3: Chemical methods, p. 1085-1121.

BREMNER, J.M.; KEENEY, D.R. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: III. Exchangeable ammonium, nitrate, and nitrite by extraction-distillation methods. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 30, p. 577-582, 1966.

BROWN, L.; SCHOLEFIELD, D.; JEWKES, E.C.; PREEDY, N.; WADGE, K.; BUTLER, M. The effect of sulphur application on the efficiency of nitrogen use in two contrasting grassland soils. **Journal of Agricultural Science**, New York, v. 135, p. 131-138, 2000.

BURLE, M.L.; MIELNICZUK, J.; FOCCHI, S. Effect of cropping systems on soil chemical characteristics, with emphasis on soil acidification. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 190, p. 309-316, 1997.

CASTELLANO, S.D.; DICK, R.P. Cropping and sulfur fertilization influence on sulfur transformation in soil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 54, p. 114-121, 1990.

CRAWFORD, N.M.; KAHN, M.L.; LEUSTEK, T.; LONG, S.R. Nitrogen and sulphur. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Ed.). **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. chap. 16, p. 786-849.

CURTIN, D.; BEARE, M.H.; McCALLUM, F.M. Sulphur in soil and light fraction organic matter as influenced by long-term application of superphosphate. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 39, p. 2547-2554, 2007.

DIJKSHOORN, W.; van WIJK, A.L. The sulphur requirements of plants as evidenced by the sulphur-nitrogen ratio in the organic matter: A review of published data. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 26, p. 129-157, 1967.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. 412 p.

ERIKSEN, J. Sulphur cycling in Danish agricultural soils: turnover in organic S fractions. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, p. 1371-1377, 1997.

ERIKSEN, J.; MURPHY, M.D.; SCHNUG, E. The soil sulphur cycle. In: SCHNUG, E. (Ed.). **Sulphur in agroecosystems**. Dordrecht; Boston; London: Kluwer Academic, 1998. p. 39-73.

FENTON, G.; HELYAR, K. The role of the nitrogen and carbon cycle in soil acidification. **Informações Agronômicas Potafos**, Piracicaba, n. 98, p. 1-12, 2002. (Encarte Técnico).

FRENEY, J.R.; MELVILLE, G.E.; WILLIAMS, C.H. Soil organic matter fractions as sources of plant-available sulphur. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 7, p. 217-221, 1975.

GHANI, A.; McLAREN, R.G.; SWIFT, R.S. Sulphur mineralization and transformations in soils as influenced by additions of carbon, nitrogen and sulphur. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 24, p. 331-341, 1992.

_____. The incorporation and transformations of ^{35}S in soil: effects of soil conditioning and glucose or sulphate additions. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 327-335, 1993.

GOH, K.M.; PAMIDI, J. Plant uptake of sulphur as related to changes in the HI-reducible and total sulphur fractions in soil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 250, p. 1-13, 2003.

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

HAWKINS, B.J.; BOUKCIM, H.; PLASSARD, C. A comparison of ammonium, nitrate and proton net fluxes along seedlings roots of Douglas-fir and lodgepole pine grown and measured with different inorganic nitrogen sources. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 31, p. 278-287, 2008.

HU, Z.; YANG, Z.; XU, C.; HANEKLAUS, S.; CAO, Z.; SCHNUG, E. Effect of crop growth on the distribution and mineralization of soil sulfur fractions in the rhizosphere. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 165, p. 249-254, 2002.

HYLANDER, L.D.; AE, N. Nutrient distribution around roots of *Brachiaria*, maize, sorghum, and upland rice in an Andisol. **Soil Science and Plant Nutrition**, Oxford, v. 45, p. 617-626, 1999.

ISHIKAWA, T.; SUBBARAO, G.V.; ITO, O.; OKADA, K. Suppression of nitrification and nitrous oxide emission by the tropical grass *Brachiaria humidicola*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 255, p. 413-419, 2003.

JARVIS, S.C.; MACDUFF, J.H. Nitrate nutrition of grasses from steady-state supplies in flowing solution culture following nitrate deprivation and/or defoliation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 40, p. 965-975, 1989.

JOHNSON, C.M.; NISHITA, H. Micro-estimation of sulphur in plant materials, soils and irrigation waters. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 24, p. 736-742, 1952.

KALMBACHER, R.S.; EZENWA, I.V.; ARTHINGTON, J.D.; MARTIN, F.G. Sulfur fertilization of Bahiagrass with varying levels of nitrogen fertilization on a Florida Spodosol. **Agronomy Journal**, Madison, v. 97, p. 661-667, 2005.

KERTESZ, M.A.; MIRLEAU, P. The role of soil microbes in plant sulphur nutrition. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 1939-1945, 2004.

KOWALENKO, C.G. Variations in within-season nitrogen and sulfur interaction effects on forage grass response to combinations of nitrogen, sulfur, and boron applications. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 35, p. 759-780, 2004.

LARK, R.M.; MILNE, A.E.; ADDISCOTT, T.M.; GOULDING, K.W.T.; WEBSTER, C.P.; O'FLAHERTY, S. Scale- and location-dependent correlation of nitrous oxide emissions with soil properties: an analysis using wavelets. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 22, p. 611-627, 2004.

LI, S.; LIN, B.; ZHOU, W. Soil organic sulfur mineralization in the presence of growing plants under aerobic and waterlogged conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, p. 721-727, 2001.

LILIENFEIN, J.; WILCKE, W.; VILELA, L.; AYARZA, M.A.; LIMA, S.C.; ZECH, W. Soil fertility under native Cerrado and pasture in the Brazilian savanna. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 67, p. 1195-1205, 2003.

LISLE, L.; LEFROY, R.; ANDERSON, G.; BLAIR, G. Methods for the measurement of sulphur in plants and soil. **Sulfur in Agriculture**, Washington, v. 14, p. 45-54, 1994.

LITTELL, R.C.; MOTT, G.O. Computer assisted design and analysis of response surface experiments in agronomy. **Soil and Crop Society of Florida Proceedings**, Ona, v. 34, p. 94-97, 1975.

MACKIE-DAWSON, L.A. Nitrogen uptake and root morphological responses of defoliated *Lolium perenne* (L.) to a heterogeneous nitrogen supply. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 209, p. 111-118, 1999.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2nd ed. London: Academic Press, 1995. 889 p.

- MARSCHNER, H.; RÖMHELD, V. *In vivo* measurement of root-induced pH changes at the soil interface: effect of plant species and nutrient sources. **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie**, Jena, v. 111, p. 241-251, 1983.
- MATHOT, M.; MERTENS, J.; VERLINDEN, G.; LAMBERT, R. Positive effects of sulphur fertilisation on grasslands yields and quality in Belgium. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 28, p. 655-658, 2008.
- MAYNARD, D.G.; STEWART, J.W.B.; BETTANY, J.R. The effects of plants on soil sulfur transformations. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 17, p. 127-134, 1985.
- McGILL, W.B.; COLE, C.V. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. **Geoderma**, Amsterdam, v. 26, p. 267-286, 1981.
- NELSON, D.W.; SOMMERS, L.E. Determination of total nitrogen in plant material. **Agronomy Journal**, Madison, v. 65, p. 109-112, 1973.
- _____. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T.; SUMMER, M.E. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2nd ed. Madison: SSSA; ASA, 1996. pt 3: Chemical methods, p. 961-1010.
- NEPTUNE, A.M.L.; TABATABAI, M.A.; HANWAY, J.J. Sulfur fractions and carbon-nitrogen-phosphorus-sulfur relationships in some Brazilian and Iowa soils. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 39, p. 51-55, 1975.
- NGUYEN, C. Rhizodeposition of organic C by plants: mechanisms and controls. **Agronomie**, Paris, v. 23, p. 375-396, 2003.
- NGUYEN, M.L.; GOH, K.M. Status and distribution of soil sulphur fractions, total nitrogen and organic carbon in camp and non-camp soils of grazed pastures supplied with long-term superphosphate. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 14, p. 181-190, 1992.
- PURCHASE, B.S. Evaluation of the claim that grass root exudates inhibit nitrification. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 41, p. 527-539, 1974.
- RAMBO, L.; SILVA, P.R.F.; BAYER, C.; ARGENTA, G.; STRIEDER, M.L.; SILVA, A.A. Teor de nitrato como indicador complementar da disponibilidade de nitrogênio no solo para o milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 731-738, 2007.
- SAS INSTITUTE. **SAS® 9.1.2 windows**. Cary, 2004. 2 CD-ROM.
- SIX, J.; FELLER, C.; DENEFF, K.; OGLE, S.M.; MORAES SÁ, J.C.; ALBRECHT, A. Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils – effects of no-tillage. **Agronomie**, Paris, v. 22, p. 755-775, 2002.

SOLOMON, D.; LEHMANN, J.; TEKALIGN, M.; FRITZSCHE, F.; ZECH, W. Sulfur fractions in particle-size separates of the sub-humid Ethiopian highlands as influenced by land use changes. **Geoderma**, Amsterdam, v. 102, p. 41-59, 2001.

STEVENSON, F. **Cycles of soil carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur and micronutrients**. New York: John Wiley, 1985. 380 p.

SUBBARAO, G.V.; ISHIKAWA, T.; ITO, O.; NAKAHARA, K.; WANG, H.Y.; BERRY, W.L. A bioluminescence assay to detect nitrification inhibitors released from plant roots: a case study with *Brachiaria humidicola*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 288, p. 101-112, 2006.

TABATABAI, M.A. Sulfur. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: SSSA; ASA, 1982. pt 2: Chemical methods, p. 501-538.

_____. Chemistry of sulfur in soils. In: TABATABAI, M.A.; SPARKS, D.L. (Ed.). **Chemical processes in soils**. Madison: SSSA, 2005. chap. 3, p. 193-226. (SSSA Book Series, 8).

TABATABAI, M.A.; BREMNER, J.M. A simple method of determining total S in plant materials. **Agronomy Journal**, Madison, v. 62, p. 805-806, 1970.

THOMAS, G.W. Soil pH and soil acidity. In: SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T.; SUMMER, M.E. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2nd ed. Madison: SSSA; ASA, 1996. pt. 3: Chemical methods, p. 475-490.

THORNTHON, B.; MILLARD, P. Increased defoliation frequency depletes remobilization of nitrogen for leaf growth in grasses. **Annals of Botany**, Oxford, v. 80, p. 89-85, 1997.

VIEIRA, F.C.B.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; ZANATTA, J.; BISSANI, C.A. Long-term acidification of a Brazilian Acrisol as affected by no till cropping systems and nitrogen fertilizer. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 46, p. 17-26, 2008.

WANG, J.; SOLOMON, D.; LEHMANN, J.; ZHANG, X.; AMELUNG, W. Soil organic sulfur forms and dynamics in the Great Plains of North America as influenced by long-term cultivation and climate. **Geoderma**, Amsterdam, v. 133, p. 160-172, 2006.

YANG, Z.; SINGH, B.R.; HANSEN, S.; HU, Z.; RILEY, H. Aggregate associated sulfur fractions in long-term (>80 years) fertilized soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 71, p. 163-170, 2007.

6 ALTERAÇÕES NA FISIOLOGIA E NO METABOLISMO DE GRAMÍNEA DEVIDO ÀS FORMAS DE NITROGÊNIO E DOSES DE ENXOFRE

Resumo

A quantidade e as formas disponíveis dos nutrientes podem influenciar o processo de crescimento e desenvolvimento das plantas. O nitrogênio e o enxofre se inter-relacionam nos processos fisiológicos e bioquímicos na planta, com reflexos na produção vegetal. Visando elucidar aspectos da interação nitrogênio x enxofre em gramíneas foi desenvolvido o presente trabalho com o objetivo de avaliar as alterações na fisiologia e no metabolismo da planta-modelo *Hordeum vulgare* (cevada) que afetam a produção, em virtude da adubação combinada de formas de nitrogênio e doses de enxofre. O trabalho foi conduzido englobando dois experimentos subseqüentes com solo e solução nutritiva. No experimento com solo foram testados nove tratamentos oriundos da combinação de formas de nitrogênio (nitrato e uréia) e doses de enxofre (15 e 30 mg dm⁻³ de solo), com ambos fatores incluindo o controle, somados a um tratamento testemunha contendo somente o inibidor de nitrificação dicianodiamida (DCD). O experimento com solução nutritiva foi composto por nove tratamentos resultantes da combinação do controle + doses de nitrogênio na forma nitrato (0; 0,3 e 2 mmol L⁻¹) e doses de enxofre (0,1; 0,3 e 1,2 mmol L⁻¹). Ambos os experimentos foram conduzidos utilizando o delineamento experimental de blocos inteiramente aleatorizados, com seis repetições. Os resultados indicaram que alterações no metabolismo e fisiologia da gramínea advindas da interação nitrogênio x enxofre são dependentes da forma de nitrogênio fornecida para a nutrição da planta. O uso de nitrogênio na forma nítrica na adubação de plantas de cevada aumentou os efeitos deletérios da limitação de enxofre por diminuir a atividade da redutase do nitrato e aumentar a concentração de nitrato e aminoácidos livres no tecido vegetal, principalmente como asparagina e glicina. A atividade da enzima redutase do nitrito não foi influenciada pelas doses de enxofre aplicadas. O aumento nas doses de nitrato implicou na necessidade de incremento proporcional nas doses de enxofre para aumentar a atividade da enzima redutase do nitrato da parte aérea das plantas de cevada.

Palavras-chave: Aminoácidos; *Hordeum vulgare*; Redutase do nitrato; Redutase do nitrito

Abstract

The amount and forms of available nutrients in soil can affect the development and growth of plants. Nitrogen and sulphur are interconnected through physiological and biochemical pathways in the plants, which is determinant for production. Trying to identify some aspects of the nitrogen and sulphur interactions in graminaceous plants, this study was elaborated with the objective to evaluate changes in the physiology and metabolism of the model plant *Hordeum vulgare* (barley) linked to yield, and influenced by fertilization with nitrogen forms and sulphur rates. The study was carried out involving two

experiments, one with plants grown in soil and another in nutrient solution. In the soil experiment nine treatments obtained from the combination of nitrogen forms (nitrate and urea) and sulphur rates (15 and 30 mg dm⁻³ of soil) were tested. The combination of both factors, including the respective controls, was added to another treatment composed only by the nitrification inhibitor dicyandiamide (DCD). The experiment with nutrient solution had nine treatments formed by combination of control + nitrate rates (0; 0,3 and 2 mmol L⁻¹) and sulphur rates (0,1; 0,3 and 1,2 mmol L⁻¹). The experiments were set in randomized block design, with six replications. The results showed that modifications in the physiology and metabolism of gramineaceous plants due to interaction nitrogen x sulphur depends on the form of nitrogen supplied to the plant. Sulphur deficient barley plants fed with nitrate presented high accumulation of nitrate in plant shoots linked to low nitrate reductase activity, and increased free amino acids (specially asparagine and glycine) concentrations. The activity of nitrite reductase was not affected by the applied sulphur rates. Increasing nitrate supply required proportional increase in sulphur supply, in order to enhance the nitrate reductase activity in barley plant shoots.

Keywords: Amino acids; *Hordeum vulgare*; Nitrate reductase; Nitrite reductase

6.1 Introdução

A produção das plantas, como resultado do processo de crescimento e desenvolvimento, depende da disponibilidade dos nutrientes em relação à forma e às quantidades no substrato. Dentre os macronutrientes, o nitrogênio tem merecido destaque na resposta produtiva de gramíneas forrageiras (DOTZENKO, 1961; LAURIAULT; KIRKSEY; DONART, 2002; REICH et al., 2003). Os efeitos benéficos da adubação nitrogenada na produção das plantas não se restringem apenas à quantidade desse elemento adicionada ao solo, mas as formas fornecidas para absorção pelas raízes têm análoga importância por alterarem o metabolismo vegetal, com reflexos na morfogênese da planta (WANG; BELOW, 1992; BELTRANO et al., 1999; WALCH-LIU et al., 2000; SANTOS, 2003; RAHAYU et al., 2005).

A conhecida interação dos nutrientes nitrogênio e enxofre na síntese de proteínas (CRAWFORD et al., 2000) requer atenção no monitoramento da concentração do enxofre na avaliação do estado nutricional das plantas, embora a concentração desse elemento seja baixa se comparada aos demais macronutrientes (BERGMANN, 1992). Considerando pastagens formadas por gramíneas, conjugar adequadamente o fornecimento de nitrogênio e enxofre na adubação tem se mostrado uma técnica

eficiente para aumentar a produtividade dessas plantas (BROWN et al., 2000; KOWALENKO, 2004; KALMBACHER et al., 2005; MATHOT et al., 2008; BATISTA; MONTEIRO, 2008). No entanto, a maioria dos estudos se detêm em avaliar os efeitos da adubação combinada de nitrogênio e de enxofre pelos parâmetros quantitativos *per si*, tais como: massa seca, concentração de nutriente, área foliar e/ou perfilhamento (BROWN et al., 2000; KOWALENKO, 2004; KALMBACHER et al., 2005; MATHOT et al., 2008; BATISTA; MONTEIRO, 2008), não enfocando as modificações no metabolismo da planta que originaram as alterações nos componentes produtivos da planta.

A alocação dos nutrientes nitrogênio e enxofre nas proteínas compreende uma série de reações enzimáticas e intrincada rede de relações bioquímicas e fisiológicas desde a absorção desses nutrientes pelo sistema radicular (KOPRIVA; RENNENBERG, 2004), sendo estreitamente dependente da razão de concentração desses elementos na planta (DIJKSHOORN; van WIJK, 1967) e das formas disponíveis no solo (MILLER et al., 2007). As diferenças se iniciam pelo processo assimilatório do nitrogênio, onde a forma nítrica precisa ser reduzida a amônio, pelo complexo enzimático redutase do nitrato e redutase do nitrito, para incorporação nos aminoácidos pelas enzimas sintase da glutamina e sintetase do glutamato na rota conhecida como GS-GOGAT. Por sua vez, o nitrogênio amoniacal absorvido pelas raízes pode ser convertido diretamente pela GS-GOGAT em glutamina. Alternativamente a enzima desidrogenase do glutamato (GDH) também pode converter o amônio formado ou absorvido em glutamato nas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

De forma análoga ao nitrato, a assimilação do sulfato absorvido pelas plantas também exige gasto energético pelas células no processo de redução desse ânion até a incorporação no aminoácido cisteína (HELL, 1997), sendo este o primeiro composto orgânico contendo enxofre que é estável na planta (CRAWFORD et al., 2000). A assimilação do sulfato após a absorção pelo sistema radicular é iniciada pela ativação do íon sulfato pela enzima ATP sulfúrilase formando adenosina-5-fosfosulfato (APS). Posteriormente, a APS é reduzida por meio de duas enzimas (redutase da APS e redutase do sulfito) a sulfeto, o qual é incorporado na O-acetilserina pela ação da enzima OAS-tiol-liase para formar acetato e cisteína (CRAWFORD et al., 2000).

Indispensável para a assimilação do enxofre na cisteína, o aminoácido O-acetilserina tem sua origem a partir da serina. Portanto, o esqueleto de carbono e o nitrogênio presentes na cisteína são originários da serina, a qual é produzida pela fotorrespiração (KOPRIVA; RENNENBERG, 2004). Por sua vez, o nitrogênio presente na serina é produto da redução e assimilação do nitrogênio. Assim, a provisão da serina é dependente de adequado suprimento de carbono e nitrogênio, e esse ponto de convergência representa a união das rotas metabólicas de assimilação do nitrogênio e carbono em coordenação com a rota metabólica de assimilação do enxofre (HAWKESFORD, 2000). Qualquer desbalanço na disponibilidade desses elementos para a planta reflete-se nesse ponto de interligação do metabolismo, havendo acúmulo ou carência dos aminoácidos sintetizados.

Estudos indicam que a ação das formas de nitrogênio no metabolismo vegetal pode ser influenciada pela adição de enxofre na adubação das plantas e vice-versa (MIGGE et al., 2000; PROSSER et al., 2001; NIKIFOROVA et al., 2006). Tais pesquisas constataram que a baixa disponibilidade de enxofre no meio afetou o metabolismo do nitrogênio pela diminuição na concentração dos aminoácidos cisteína e metionina (NIKIFOROVA et al., 2006) e/ou pela redução da atividade da enzima redutase do nitrato (PROSSER et al., 2001). Os escassos trabalhos nessa área da pesquisa foram realizados principalmente com plantas-modelo como *Arabidopsis spp.*, *Spinaceae oleracea* e *Nicotiana tabacum* (MIGGE et al., 2000; PROSSER et al., 2001; NIKIFOROVA et al., 2006), havendo demanda por trabalhos visando elucidar esse aspecto fisiológico da interação nitrogênio x enxofre em outros grupos de plantas, como as gramíneas. Nesse contexto, elaborou-se o presente estudo com o objetivo de avaliar alterações na fisiologia e no metabolismo de gramíneas que afetam a produção da planta, em virtude da adubação combinada de formas de nitrogênio e doses de enxofre.

6.2 Material e métodos

O trabalho foi conduzido nas dependências do Instituto de Nutrição de Plantas da Universidade de Hohenheim, no município de Stuttgart (48° 46' N, 9° 10' L), Alemanha, englobando dois experimentos subseqüentes com solo e solução nutritiva. Devido às adversidades climáticas (ocorrência de baixas temperatura) e às características

peculiares de solo de regiões de clima temperado, optou-se pelo uso da planta-modelo *Hordeum vulgare* ao invés da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu no presente estudo. Embora sejam plantas distintas, considera-se que os efeitos dos tratamentos nos mecanismos básicos de funcionamento biológico do organismo vegetal são comparáveis.

O experimento com solo foi desenvolvido em casa de vegetação, empregando-se vasos com capacidade de 5 L. Utilizaram-se 5,8 kg de solo da camada subsuperficial (0-20 cm) por unidade experimental, cujas análises química e física encontram-se sumarizadas na Tabela 6.1.

Tabela 6.1 - Características químicas e físicas do solo^a

Classificação textural		pH CaCl ₂	M. O.		Mg	K ₂ O	P ₂ O ₅
			---- g kg ⁻¹ ----		----- g kg ⁻¹ -----		
Arenosa		6,4	13,2		70,1	110,0	430,0
SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	B	Cu	Zn	Mn	Fe	Mo
----- mg kg ⁻¹ -----							
11,0	3,3	0,5	8,4	11,0	73,0	154,0	0,074

^a A concentração de matéria orgânica do solo (M.O.) foi quantificada com auxílio de analisador elementar de carbono. Magnésio foi extraído por CaCl₂, enquanto potássio e fósforo foram determinados utilizando metodologia para solos ricos em carbonatos de cálcio por meio do extrator acetato-lactato de cálcio (SCHÜLLER, 1969). Sulfato e nitrato foram determinados por cromatografia iônica. A análise de molibdênio foi baseada na extração do elemento do solo por meio de água quente. Boro, cobre, zinco, manganês e ferro foram extraídos do solo com solução de cloreto de cálcio e DTPA. As concentrações dos micronutrientes e de magnésio foram determinadas por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

Foram testados nove tratamentos compostos pela combinação de duas formas de nitrogênio e duas doses de enxofre (em mg dm⁻³), com ambos fatores incluindo o controle (zero), somados a um tratamento testemunha contendo somente o inibidor de nitrificação dicianodiamida (DCD). Assim os tratamentos foram: 0 N - 0 S; 0 N - 15 S; 0 N - 30 S; nitrato - 0 S; nitrato - 15 S; nitrato - 30 S; uréia+DCD - 0 S; uréia+DCD - 15 S; uréia+DCD - 30 S; e DCD (controle). O delineamento experimental foi o de blocos inteiramente aleatorizados, com seis repetições.

O nitrogênio foi aplicado na dose de 300 mg dm^{-3} , utilizando-se o sal $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ para fornecer a forma nítrica. A uréia + DCD foi empregada como correspondente ao nitrogênio na forma de amônio. O suprimento de enxofre foi realizada pelo uso da fonte $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. As adubações de base com macronutrientes para o estabelecimento da cevada foram: fósforo = 200 mg dm^{-3} , potássio = 150 mg dm^{-3} e magnésio = 50 mg dm^{-3} fornecidos pelas fontes de KH_2PO_4 e $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. O cálcio foi aplicado na dose de $428,4 \text{ mg dm}^{-3}$, sendo que os ajustes em função da disponibilidade nos fertilizantes nitrogenados e sulfatados foram realizados com $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. A adubação básica referente aos micronutrientes boro, cobre, zinco, molibdênio, ferro e manganês foi realizada com as seguintes fontes e quantidades dos produtos: $\text{H}_3\text{BO}_3 = 1,5 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 2,5 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{ZnCl}_2 = 2,0 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 0,25 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Fe-EDTA} = 367 \text{ mg dm}^{-3}$; e $\text{MnCl}_2 = 8 \text{ mg dm}^{-3}$.

A irrigação foi realizada manualmente, sendo a necessidade de água monitorada pela pesagem diária dos vasos. Procurou-se manter o conteúdo de água do solo em aproximadamente 80 % da capacidade de campo. Na eventualidade da ocorrência de drenagem de água para o reservatório inferior do vaso durante o evento de irrigação, a mesma era reposta posteriormente no referido vaso, objetivando evitar a perda de nutrientes por lixiviação.

Seis plantas de cevada de verão da variedade Barke foram cultivadas por vaso. Aos 35 dias após o transplante das mudas para o vaso coletaram-se amostras da parte aérea das plantas, colocando-as em nitrogênio líquido para posterior determinação de nitrato e aminoácidos, armazenando-se o material coletado em *freezer* a -20°C . A colheita das plantas foi realizada aos 51 dias após o transplante coletando-se todo o material vegetal da parte aérea, o qual foi colocado em estufa com ventilação forçada regulada na temperatura de 65°C até atingir massa constante. Por ocasião da colheita realizaram-se também a contagem do número de perfilhos e a estimativa do teor de clorofila das folhas recém-expandidas com auxílio de clorofilômetro SPAD-502 Minolta®. Com a finalização do experimento, amostras da solução percolada do solo foram coletadas para determinação do teor de nitrato por meio de teste rápido Merckoquant® Merck, a fim de verificar a efetividade do DCD na inibição do processo de nitrificação no solo.

O material vegetal foi fragmentado em moinho isento de liga metálica para determinação da concentração de molibdênio. A dissolução das amostras foi realizada com o uso de microondas utilizando ácido nítrico. A concentração de molibdênio foi obtida por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado ICP-MS Varian®.

As amostras para determinação de nitrato e aminoácidos foram moídas em CO₂ sólido para evitar o aquecimento das mesmas. Procedeu-se a extração do nitrato em amostra de 50 mg de material vegetal disposto em tubos de Eppendorf de 1,5 mL mediante a adição de 1 mL da solução de CH₂O₂ 10 mmol L⁻¹ em baixa temperatura (< 2 °C). Após centrifugação a 13000 rpm por 5 minutos em temperatura de 4 °C, retiraram-se 80 µL do sobrenadante em duplicatas, aos quais se adicionaram 160 µL de solução 1 % de C₇H₆O₃ dissolvido em H₂SO₄ (99,8 % de pureza) e 160 µL de água ultra-pura para determinação de nitrato e correção de *background*, respectivamente. Depois de 20 minutos de repouso em gelo, adicionou-se 1,8 mL de solução de NaOH 4 mol L⁻¹ sob baixa temperatura (< 2 °C) e procedeu-se a quantificação do nitrato em planta com auxílio de espectrofotômetro marca Genesys 10 (Thermo Scientific®) ajustado em comprimento de onda de 410 nm.

O extrato para determinação de aminoácidos na planta foi obtido com solução de CH₂O₂ 10 mmol L⁻¹, adicionando-se 40 µmol L⁻¹ de aminoácido de origem animal norvalina como padrão interno. Os aminoácidos foram determinados empregando derivatização pré-coluna com ortoftaldeído (OPA) e quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). O cromatógrafo a líquido da marca Shimadzu® era equipado por: módulo de comunicação CBM 10-A, módulo de controle de temperatura CTO 10-A, injetor automático SIL 10-A, bomba de HPLC 10-AS, forno CRB-6A, coluna de fase reversa C-18 150 x 4-6 mm (Spheriforb ODS 2) e detector de fluorescência RF 10-A. Para a detecção pela fluorescência adotaram-se os comprimentos de onda de excitação de 340 nm e de emissão de 445 nm. Os solventes usados foram: (A) = acetato de sódio (pH 5-7) 0,05 mol L⁻¹ + 3 % v/v de tetrahydrofurano (THF) e (B) = metanol + 5 % THF. O tempo de separação dos 19 aminoácidos analisados foi de aproximadamente 30 minutos por amostra. A concentração de aminoácidos foi

determinada por meio do programa computacional integrador de áreas de pico (Spectra Physics SP 4270).

O experimento com solução nutritiva foi conduzido em câmara climatizada regulada em temperatura de 20 °C, com fornecimento de luz na intensidade aproximada de 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR, na proporção dia/noite de 16/8 horas. A solução nutritiva completa a partir da qual se compuseram os tratamentos era composta por: 2,0; 0,1; 1,6; 2,0; 0,5; e 1,2 mmol L^{-1} de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, respectivamente, e 1,0; 0,5; 0,5; 0,2; 0,01 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de boro, manganês, zinco, cobre, molibdênio e Fe-EDTA, respectivamente. Assim, testaram-se nove combinações formadas por controle (zero) + doses de nitrogênio (1+2) na forma nitrato e três doses de enxofre, respectivamente, em mmol L^{-1} : 0 N - 0,1 S; 0 N - 0,3 S; 0 N - 1,2 S; 0,3 nitrato - 0,1 S; 0,3 nitrato - 0,3 S; 0,3 nitrato - 1,2 S; 2,0 nitrato - 0,1 S; 2,0 nitrato - 0,3 S; e 2,0 nitrato - 1,2 S. O nitrogênio nítrico e o enxofre foram fornecidos pelas fontes $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e K_2SO_4 . O delineamento experimental foi o de blocos inteiramente aleatorizados, com seis repetições.

Visando avaliar o efeito de indução pela dose de nitrogênio nítrico dentro das doses de enxofre na atividade das enzimas redutase do nitrato e redutase do nitrito, procedeu-se o manejo dos respectivos fertilizantes na solução completa, de acordo o esquema da Figura 6.1. Após a transferência de oito plântulas de cevada para vasos com capacidade de 2,8 L, as mesmas foram supridas por 10 dias com 1 mmol L^{-1} de NH_4NO_3 subdivididas em três grupos (tratamentos) conforme o suprimento de enxofre: 0,1; 0,3 e 1,2 mmol L^{-1} . Em seguida, retirou-se o nitrogênio da solução nutritiva por dois dias. Depois da imposição dessa deficiência de nitrogênio, aplicaram-se os tratamentos de nitrogênio (0, 0,3 e 2 mmol L^{-1} de nitrogênio nítrico) nos tratamentos de enxofre por dois dias, quando se colheram as plantas integralmente para a determinação da atividade das enzimas redutase do nitrato e redutase do nitrito.

Figura 6.1 – Esquema de aplicação de nitrogênio e enxofre, em dias subsequentes e nas respectivas doses

A atividade da redutase do nitrato foi determinada utilizando-se 1 g de tecido de parte aérea fresca de planta cortado em pedaços de 0,2-0,5 cm e colocado imediatamente em frascos de vidro contendo solução incubadora com a seguinte composição: KNO₃ 0,1 mol L⁻¹, K₂HPO₄/KH₂PO₄ padrão pH 7,5 0,1 mol L⁻¹, 2 % n-propanol (ou butanol) e Na₂CO₃ 0,01 mol L⁻¹. Após 30 e 60 minutos de agitação sob luz forte foram retiradas alíquotas de 0,5 mL de sobrenadante para determinação do nitrito produzido. O desenvolvimento de cor para leitura da concentração de nitrito acumulado foi obtido mediante a adição de 0,5 mL de sulfanilamida e 0,5 mL de N-naftil-(1)-etileno-diamônicloro aos 0,5 mL de sobrenadante coletados e armazenados no escuro. A leitura foi realizada em espectrofotômetro marca Genesys 10 (Thermo Scientific®) ajustado em comprimento de onda de 540 nm.

Para determinação da atividade da redutase do nitrito foi utilizado 1 g de tecido de parte aérea fresca de plantas fracionado entre 0,2-0,5 cm e disposto em tubos Falkon de 50 mL contendo água destilada e meio de incubação contendo: KNO_2 6 mmol L^{-1} , $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ padrão pH 7,5 0,1 mol L^{-1} , 2 % n-propanol e 20 mmol L^{-1} de metilviologênio (gramoxone). A reação foi iniciada com a adição de 4 mL de sódio-ditionito. Os tubos foram incubados por 40 minutos a 25°C sob luz forte (sem agitação), com posterior retirada de 1 mL do sobrenadante. Em seguida, essa alíquota foi diluída em água na proporção 1:10 adicionando-se 1 mL de sulfanilamida e 1 mL de N-naftil-(1)-etileno-diamôniocloro para o desenvolvimento da cor. A leitura do nitrito remanescente foi realizada em espectrofotômetro conforme descrito anteriormente.

A análise estatística dos resultados foi realizada empregando-se o aplicativo computacional “Statistical Analysis System” (SAS, 2004). As variáveis foram submetidas à análise de variância pelo procedimento ANOVA e, em função do nível de significância do teste F, foi efetuado o teste Tukey para comparação de médias. Adotou-se o nível de significância de 5 % para todos os testes estatísticos.

6.3 Resultados e discussão

A produção de massa seca da gramínea *Hordeum vulgare* foi influenciada tanto pela forma de nitrogênio como pelas doses de enxofre (Figura 6.2a). Em geral, constata-se que o enxofre intensificou a resposta das plantas à aplicação de nitrogênio, independentemente da forma utilizada. Esse aumento da produção de gramíneas mediante a combinação de nitrogênio e de enxofre na adubação corrobora resultados de outros trabalhos (KOWALENKO, 2004; KALMBACHER et al., 2005; MATHOT et al., 2008; BATISTA; MONTEIRO, 2008).

Figura 6.2 - Produção de massa seca da parte aérea (a), valor SPAD (b) e número de perfilhos (c) da cevada em resposta à combinação de formas de nitrogênio e doses de enxofre na adubação
 * Letras maiúsculas comparam doses de enxofre dentro de cada forma de nitrogênio e letras minúsculas comparam todos os tratamentos entre si. Médias seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância

É importante verificar que a ausência de enxofre na adubação anulou os efeitos positivos da adição de nitrogênio na produção da gramínea (Figura 6.2a). Esse padrão de variação também foi observado para as variáveis valor SPAD (Figura 6.2b) e número de perfilhos (Figura 6.2c). Considerando condição semelhante de fornecimento de enxofre, constatou-se que as plantas adubadas com uréia + DCD não diferiram das plantas adubadas com nitrogênio nítrico em relação ao número de perfilhos (Figura 6.2c). Tal resultado não era esperado, supondo-se alta efetividade do inibidor de nitrificação, pois diversos trabalhos indicam aumento de perfilhamento das plantas com o incremento da disponibilidade de nitrato comparado a amônio no solo (WANG; BELOW, 1992; SANTOS, 2003; BAUER; BANGERTH; von WIRÉN, 2007). No entanto, as concentrações de nitrato determinadas na solução percolada do solo no final do experimento comprovam que a ação do DCD não inibiu completamente a nitrificação (WEISKE; BENCKISER; OTTOW, 2001) durante os 51 dias de duração do estudo (Figura 6.3), o que caracteriza o tratamento uréia + DCD como uma mistura das formas nitrato + amônio, que, em proporções adequadas, pode maximizar o perfilhamento das gramíneas (WANG; BELOW, 1992; SANTOS, 2003; BAUER; BANGERTH; von WIRÉN, 2007).

Conquanto seja determinante na produção das gramíneas, o perfilhamento das plantas parece ser mais dependente da qualidade, em termos de formas (WANG; BELOW, 1992; SANTOS, 2003; BAUER; BANGERTH; von WIRÉN, 2007), do que da quantidade (McKENZIE; JACOBS; KEARNEY, 2002; PREMAZZI; MONTEIRO; CORRENTE, 2003) de nitrogênio aplicada. A quebra de dormência das gemas laterais é controlada pela interação dos hormônios auxina e citocinina (ONGARO; LEYSER, 2007; DOUST, 2007), sendo que o suprimento de nitrato e, preferencialmente da mistura nitrato + amônio, induzem o aumento da síntese e translocação de citocinina (SAMUELSON; LARSSON, 1993; WALCH-LIU et al., 2000; BAUER; BANGERTH; von WIRÉN, 2007), o que incrementa a emissão de perfilhos pela planta (WANG; BELOW, 1996; BAUER; BANGERTH; von WIRÉN, 2007). Aparentemente as doses de enxofre não influenciaram a ação das formas de nitrogênio na regulação dos hormônios ligados ao perfilhamento da gramínea cevada (Figura 6.2c).

Figura 6.3 - Nitrato na solução percolada do solo ao final do experimento com combinação de formas de nitrogênio e doses de enxofre

* Letras maiúsculas comparam doses de enxofre dentro de cada forma de nitrogênio e letras minúsculas comparam todos os tratamentos entre si. Médias seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância

Em busca de explicações fisiológicas e metabólicas para a significância da interação nitrogênio x enxofre (Figura 6.2), determinou-se a concentração de nitrato nas plantas de cevada (Figura 6.4a). Tais resultados demonstraram acentuado acúmulo de nitrato no tecido vegetal das plantas crescidas sem a adição de enxofre e adubadas com nitrogênio na forma nítrica. Acúmulo de nitrato com enxofre limitante no meio foi descrito previamente para *Zea mays* (FRIEDRICH; SCHRADER, 1978), *Nicotiana tabacum* (MIGGE et al., 2000), *Spinacea oleraceae* (PROSSER et al., 2001) e alga verde *Dunaliella salina* (GIORDANO; PEZZONI; HELL, 2000), embora essas pesquisas não tenham sido realizadas sob condições de solo. Em adição, o uso de uréia + DCD que disponibilizou menos nitrato na solução do solo (Figura 6.3) não produziu expressivo acúmulo de nitrato na planta deficiente de enxofre (Figura 6.4a), sugerindo que a limitação desse nutriente altera negativamente a redução do nitrogênio nítrico no processo de assimilação desse elemento pela planta (FRIEDRICH; SCHRADER, 1978; GIORDANO; PEZZONI; HELL, 2000; THOMAS et al., 2000; PROSSER et al., 2001).

Figura 6.4 - Concentrações de nitrato (a) e de molibdênio (b) na massa seca da parte aérea da cevada em resposta à combinação de formas de nitrogênio e doses de enxofre na adubação

* Letras maiúsculas comparam doses de enxofre dentro de cada forma de nitrogênio e letras minúsculas comparam todos os tratamentos entre si. Médias seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância

Como é conhecida a demanda de molibdênio para a atividade da enzima redutase do nitrato da planta (MENDEL, 2007), especulou-se a possibilidade da gramínea ter absorvido baixas quantidades desse micronutriente sob condição de enxofre limitante associada à competição iônica entre molibdato e nitrato no solo. No entanto, tal hipótese foi refutada ao se verificar que as concentrações de molibdênio (Figura 6.4b), independente dos tratamentos, apresentarem valores muito superiores a faixa de concentração de 0,10 a 0,30 $\mu\text{g g}^{-1}$ de massa seca, considerada adequada para plantas de cevada de verão (BERGMANN, 1992). Também, observou-se maior absorção de molibdênio pela planta cultivada sem receber enxofre na adubação (Figura 6.4b), concordando com os resultados de Monteiro (1986) e Alhendawi, Kirkby e Pilbeam (2005). Alhendawi, Kirkby e Pilbeam (2005), trabalhando com plantas de *Lycopersicon esculentum*, constataram aumento da translocação de molibdênio no xilema em plantas deficientes em enxofre. Esses resultados podem ser explicados pela teoria de que os transportadores de sulfato presentes na membrana plasmática e super-expressos em condições de baixo enxofre (MARUYAMA-NAKASHITA et al., 2004) são capazes de carregar molibdato, embora em trabalho recente de clonagem do primeiro transportador de molibdato em plantas *MOT1* tenha sido provado que um dos transportadores de sulfato *Sultr 1;2* não é capaz de carregar o íon molibdato e vice-versa (TOMATSU et al., 2007).

Avaliando-se a indução da atividade das enzimas componentes do complexo de redução do nitrogênio (redutase do nitrato e redutase do nitrito) em função de doses de nitrogênio dentro das doses de enxofre (Figura 6.5), verificou-se a necessidade de suprimento adequado de enxofre para manter a atividade da redutase do nitrato quando se aumentam as doses de nitrogênio no solo (Figura 6.5a). Esse padrão de variação pode ser relacionado à resposta de gramíneas forrageiras adubadas com nitrogênio e enxofre, cujos resultados demonstram que altas doses de nitrogênio para aumentar a produção somente são efetivas mediante o aumento proporcional nas doses aplicadas de enxofre (KALMBACHER et al., 2005; BATISTA; MONTEIRO, 2008; MATHOT et al., 2008). Trabalhos envolvendo diversas espécies vegetais também mostraram diminuição na atividade da enzima redutase do nitrato sob condições de enxofre limitante no meio (FRIEDRICH; SCHRADER, 1978; GIORDANO; PEZZONI; HELL, 2000; THOMAS et al.,

2000; PROSSER et al., 2001). Migge et al. (2000), trabalhando com *Nicotiana tabacum*, verificaram que a atividade da redutase do nitrato diminuiu 90 %, em relação à atividade inicial, nas plantas cultivadas durante cinco ou seis semanas sem suprimento de enxofre.

Diferentemente da redutase do nitrato (Figura 6.5a), a atividade da redutase do nitrito não foi influenciada substancialmente pelas doses de enxofre (Figura 6.5b). Entretanto, constatou-se que a variação da média de nitrito reduzido foi de 214 a 325 $\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1}$ de massa verde, em virtude da adição de 2 mmol L^{-1} de nitrogênio nítrico na solução nutritiva (ASLAM; HUFFAKER, 1989). Segundo Aslam e Huffaker (1989), a atividade da redutase do nitrito é induzida pela quantidade de nitrato presente no meio. A atividade da enzima redutase do nitrito foi até 267 vezes maior que a atividade da redutase do nitrato (Figura 6.5), o que representa um mecanismo de defesa da planta para evitar a intoxicação pelo nitrito (MARSCHNER, 1995).

A redução da atividade da redutase do nitrato (Figura 6.5a) e o conseqüente acúmulo de nitrato nas plantas crescidas sob condições limitantes de enxofre no meio (Figura 6.4a), podem resultar em séria preocupação, caso esses resultados sejam corroborados em gramíneas forrageiras. Sabe-se que a ingestão de forragem com alto teor de nitrato pode resultar em intoxicação do animal, pois o nitrato é convertido em nitrito no rúmen, o qual se combina com a hemoglobina para formar metahemoglobina (VERMUNT; VISSER, 1987). A metahemoglobina torna-se estável e inativa, sendo incapaz de promover o transporte do oxigênio para a respiração celular, resultando na doença conhecida como metahemoglobinemia (WRIGHT; DAVISON, 1964).

Como era esperado, a adição de nitrogênio promoveu aumento na concentração total de aminoácidos no tecido vegetal da parte aérea da cevada, independente da forma disponibilizada à planta (Tabela 6.2). Considerando as plantas cultivadas com nitrato, a ausência de enxofre na adubação aumentou em aproximadamente 70 % a concentração total de aminoácidos livres na gramínea (146,24 e 86,51 $\mu\text{mol g}^{-1}$, respectivamente). Diversas pesquisas demonstraram que o desbalanço no suprimento

Figura 6.5 - Variação da atividade das enzimas redutase do nitrato (a) e redutase do nitrito (b) na parte aérea das plantas de cevada pela ação indutora das doses de nitrato dentro das doses de enxofre na solução nutritiva

* Letras maiúsculas comparam doses de enxofre dentro de cada dose de nitrato e letras minúsculas comparam todos os tratamentos entre si. Médias seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância

Tabela 6.2 - Aminoácidos determinados nas plantas de cevada, em resposta à combinação de formas de nitrogênio e doses de enxofre na adubação

Aminoácidos	Sem adubação nitrogenada			Nitrato			Uréia + DCD		
	0 S	15 S	30 S	0 S	15 S	30 S	0 S	15 S	30 S
	----- $\mu\text{mol g}^{-1}$ -----								
Ácido aspártico	5,99 (0,12) ^a	7,61 (0,62)	5,88 (0,12)	9,55 (0,15)	12,26 (0,65)	18,10 (4,85)	13,16 (2,89)	15,13 (3,36)	14,66 (0,46)
Ácido glutâmico	10,20 (0,10)	12,26 (0,04)	12,13 (0,28)	18,39 (1,07)	21,54 (1,14)	30,67 (8,99)	23,74 (5,50)	27,92 (6,82)	22,50 (1,54)
Asparagina	1,44 (0,01)	1,94 (0,29)	2,01 (0,04)	72,75 (3,08)	4,31 (0,26)	8,14 (0,26)	17,54 (4,53)	14,27 (3,85)	7,72 (0,32)
Serina	3,38 (0,16)	5,15 (0,72)	3,98 (0,14)	8,40 (0,34)	5,53 (0,09)	8,22 (2,48)	10,67 (2,90)	9,35 (2,32)	6,82 (0,16)
Glutamina	2,15 (0,01)	3,54 (0,53)	3,62 (0,13)	5,75 (0,07)	5,85 (0,25)	7,69 (0,37)	11,39 (2,86)	12,06 (3,26)	8,02 (0,33)
Histidina	0,37 (0,01)	0,33 (0,05)	0,33 (0,01)	0,59 (0,08)	0,41 (0,00)	0,79 (0,23)	0,62 (0,14)	0,91 (0,26)	0,51 (0,03)
Glicina	1,37 (0,04)	1,47 (0,31)	1,85 (0,37)	9,78 (0,98)	2,96 (0,16)	2,93 (0,65)	3,86 (0,14)	3,85 (0,83)	3,52 (0,12)
Treonina	2,21 (0,34)	2,96 (0,17)	2,69 (0,27)	3,74 (0,07)	3,83 (0,08)	5,07 (0,25)	5,41 (1,40)	6,00 (1,69)	5,20 (0,11)
Arginina	1,16 (0,32)	0,89 (0,07)	0,98 (0,10)	1,16 (0,00)	1,00 (0,04)	1,08 (0,04)	1,39 (0,38)	1,40 (0,42)	1,14 (0,03)
Alanina	4,31 (0,16)	5,28 (0,57)	5,10 (0,13)	7,94 (0,20)	8,54 (0,06)	9,91 (0,75)	11,33 (3,05)	13,18 (3,24)	9,24 (0,30)
O-acetilserina ^b	n.d.	n.d.	n.d.	0,19 (0,01)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tirosina	0,54 (0,00)	0,48 (0,06)	0,56 (0,04)	0,85 (0,29)	0,50 (0,01)	0,75 (0,23)	0,65 (0,15)	0,68 (0,16)	0,57 (0,01)
Valina	0,59 (0,17)	0,66 (0,16)	0,58 (0,08)	0,70 (0,12)	0,70 (0,14)	0,54 (0,02)	0,80 (0,52)	1,53 (0,88)	0,88 (0,09)
Metionina	1,38 (0,01)	1,36 (0,17)	1,41 (0,06)	2,10 (0,27)	1,49 (0,00)	1,44 (0,72)	2,38 (0,69)	2,64 (0,90)	1,80 (0,11)
Fenilalanina	0,81 (0,02)	0,87 (0,12)	0,75 (0,00)	0,96 (0,18)	0,95 (0,04)	0,87 (0,16)	1,19 (0,29)	1,27 (0,33)	1,01 (0,02)
Isoleucina	0,61 (0,08)	0,56 (0,13)	1,01 (0,02)	0,67 (0,14)	0,56 (0,03)	0,70 (0,01)	0,76 (0,17)	1,02 (0,26)	0,67 (0,03)
Leucina	1,51 (0,12)	1,28 (0,17)	1,52 (0,27)	1,44 (0,34)	1,38 (0,05)	1,57 (0,02)	1,81 (0,33)	2,16 (0,49)	1,55 (0,16)
Lisina	1,43 (0,12)	1,21 (0,13)	1,54 (0,41)	1,28 (0,38)	1,28 (0,05)	1,47 (0,03)	1,30 (0,15)	1,62 (0,39)	1,12 (0,10)
Cisteína ^b	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
TOTAL	39,45	47,85	45,94	146,24	73,09	99,94	108,00	114,99	86,93

^a Valores entre parênteses correspondem ao erro padrão da média ($n = 3$)

^b n.d. = não detectado

dos nutrientes nitrogênio e enxofre promove acúmulo de aminoácidos na planta (BOLTON; NOWAKOWSKY; LAZARUS, 1976; MILLARD; SAHARP; SCOTT, 1985; KARMOKER et al., 1991; GIORDANO; PEZZONI; HELL, 2000; THOMAS et al., 2000; PROSSER et al., 2001). No entanto, os resultados do presente trabalho suportam a tese de que tal padrão de variação pode estar relacionado estritamente à forma nítrica de nitrogênio fornecida à planta (Tabela 6.2).

O expressivo acúmulo de aminoácidos totais nas plantas crescidas com nitrato e sem enxofre se deve especialmente ao aumento nas concentrações dos aminoácidos asparagina e glicina, cujas concentrações foram cerca de 12 e 3 vezes maiores, respectivamente, do que as verificadas para as médias das plantas que receberam enxofre de 15 e 30 mg dm⁻³ sob condições similares de adubação nitrogenada (Tabela 6.2). É interessante ressaltar que outros autores relataram altos incrementos do aminoácido asparagina em plantas deficientes de enxofre ao utilizarem nitrato para suprir o nitrogênio às plantas (KARMOKER et al., 1991; MIGGE et al., 2000). Segundo Migge et al. (2000), o acúmulo de asparagina e glutamina (Tabela 6.2) pode atuar na repressão da transcrição dos genes da redutase do nitrato, o que explicaria em parte a redução da atividade da referida enzima (Figura 6.5a) e o aumento das concentrações de nitrato (Figura 6.4a) nas plantas crescidas com baixo enxofre no meio.

A maioria das espécies de plantas armazena mais que 80 % do nitrogênio e do enxofre nas proteínas sob relação N:S constante (DIJKSHOORN; van WIJK, 1967). Essa relação N:S nas proteínas vegetais é controlada geneticamente, de modo que o desequilíbrio nutricional causado pela limitação de enxofre promove a síntese e acúmulo de substâncias nitrogenadas de baixo peso molecular como asparagina (FRIEDRICH; SCHRADER, 1978; MIGGE et al., 2000). A alocação da sobra de nitrogênio em plantas deficientes de enxofre em compostos de reserva aumenta a concentração de aminoácidos livres (Tabela 6.2).

Não foi detectado o aminoácido cisteína nas plantas de cevada (Tabela 6.2), o que sugere que este aminoácido tenha sido metabolizado para outro aminoácido contendo enxofre (metionina ou cistina). Concordando com o que foi mostrado por Nikiforova et al. (2006), observaram-se traços do α -aminoácido O-acetilserina nas plantas cultivadas com nitrato e sem enxofre na adubação (Tabela 6.2).

6.4 Conclusões

As alterações no metabolismo e fisiologia das gramíneas advindas da interação nitrogênio x enxofre são dependentes da forma de nitrogênio fornecida para a nutrição da planta. O uso de nitrogênio na forma nítrica na adubação de plantas de cevada aumentou os efeitos deletérios da limitação de enxofre ao diminuir a atividade da redutase do nitrato e aumentar a concentração de nitrato e aminoácidos livres (principalmente de asparagina e glicina) no tecido vegetal. O aumento nas doses de nitrato implicou na necessidade de incremento proporcional nas doses de enxofre para aumentar a atividade da enzima redutase do nitrato da parte aérea das plantas de cevada.

Referências

ALHENDAWI, R.A.; KIRKBY, E.A.; PILBEAM, D.J. Evidence that sulfur deficiency enhances molybdenum transport in xylem sap of tomato plants. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 28, p. 1347-1353, 2005.

ASLAM, M.; HUFFAKER, R.C. Role of nitrate and nitrite in the induction of nitrite reductase in leaves of barley seedlings. **Plant Physiology**, Rockville, v. 91, p. 1152-1156, 1989.

BATISTA, K.; MONTEIRO, F.A. Nitrogênio e enxofre nas características morfogênicas do capim-Marandu em substituição ao capim-Braquiária em degradação em solo com baixo teor de matéria orgânica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, p. 1151-1160, 2008.

BAUER, B.; BANGERTH, F.; von WIRÉN, N. Influence of nitrogen forms on tillering, cytokinin transport and yield in cereal crop plants. In: NITROGEN 2007 SYMPOSIUM, 2007, Lancaster. **Abstracts...** Lancaster : Lancaster University, 2007. p. 112-112.

BELTRANO, J.; RONCO, M.G.; BARREIRO, R.; MONTALDI, E.R. Plant architecture of *Paspalum vaginatum* Schwartz modified by nitrate and ammonium nutrition. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, p. 1159-1166, 1999.

BERGMANN, W. **Nutritional disorders of plants**: development, visual and analytical diagnosis. Jena; Stuttgart; New York: Gustav Fisher Verlag, 1992. 741 p.

BOLTON, J.; NOWAKOWSKI, T.Z.; LAZARUS, W. Sulphur-nitrogen interaction effects on the yield and composition of the protein-N, non-protein-N and soluble carbohydrates in perennial ryegrass. **Journal of Science Food and Agriculture**, New York, v. 27, p. 553-560, 1976.

BROWN, L.; SCHOLEFIELD, D.; JEWKES, E.C.; PREEDY, N.; WADGE, K.; BUTLER, M. The effect of sulphur application on the efficiency of nitrogen use in two contrasting grassland soils. **Journal of Agricultural Science**, New York, v. 135, p. 131-138, 2000.

CRAWFORD, N.M.; KAHN, M.L.; LEUSTEK, T.; LONG, S.R. Nitrogen and sulphur. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Ed.). **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. chap. 16, p. 786-849.

DIJKSHOORN, W.; van WIJK, A.L. The sulphur requirements of plants as evidenced by the sulphur-nitrogen ratio in the organic matter: A review of published data. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 26, p. 129-157, 1967.

DOTZENKO, A.D. Effect of different levels on the yield, total nitrogen content, and nitrogen recovery of six grasses grown under irrigation. **Agronomy Journal**, Madison, v. 53, p. 131-133, 1961.

DOUST, A.N. Grass architecture: genetic and environmental control of branching. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 10, p. 21-25, 2007.

FRIEDRICH, J.W.; SCHRADER, L.E. Sulfur deprivation and nitrogen metabolism in maize seedlings. **Plant Physiology**, Rockville, v. 61, p. 900-903, 1978.

GIORDANO, M.; PEZZONI, V.; HELL, R. Strategies for the allocation of the resources under sulfur limitation in the green alga *Dunaliella salina*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 124, p. 857-864, 2000.

HAWKESFORD, M.J. Plant response to sulphur deficiency and the genetic manipulation of sulphate transporters to improve S-utilization efficiency. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 131-138, 2000.

HELL, R. Molecular physiology of plant sulfur metabolism. **Planta**, New York, v. 202, p. 138-148, 1997.

KALMBACHER, R.S.; EZENWA, I.V.; ARTHINGTON, J.D.; MARTIN, F.G. Sulfur fertilization of Bahiagrass with varying levels of nitrogen fertilization on a Florida Spodosol. **Agronomy Journal**, Madison, v. 97, p. 661-667, 2005.

KARMOKER, J.L.; CLARKSON, D.T.; SAKER, L.R.; ROONEY, J.M.; PURVES, J.V. Sulphate deprivation depresses the transport of nitrogen to the xylem and the hydraulic conductivity of barley (*Hordeum vulgare* L.) roots. **Planta**, New York, v. 185, p. 269-278, 1991.

KOPRIVA, S.; RENNENBERG, H. Control of sulphate assimilation and glutathione synthesis: interaction with N and C metabolism. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 1831-1842, 2004.

KOWALENKO, C.G. Variations in within-season nitrogen and sulfur interaction effects on forage grass response to combinations of nitrogen, sulfur, and boron applications. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 35, p. 759-780, 2004.

LAURIAULT, L.M.; KIRKSEY, R.E.; DONART, G.B. Irrigation and nitrogen effects on tall wheatgrass yield in the southern high plains. **Agronomy Journal**, Madison, v. 94, p. 792-797, 2002.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2nd ed. London: Academic Press, 1995. 889 p.

MARUYAMA-NAKASHITA, A.; NAKAMURA, Y.; YAMAYA, T.; TAKAHASHI, H. Regulation of high-affinity sulphate transporters in plants: towards systematic analysis of sulphur signalling and regulation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 1843-1849, 2004.

MATHOT, M.; MERTENS, J.; VERLINDEN, G.; LAMBERT, R. Positive effects of sulphur fertilization on grasslands yields and quality in Belgium. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 28, p. 655-658, 2008.

MENDEL, R.R. Biology of the molybdenum cofactor. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, p. 2289-2296, 2007.

McKENZIE, F.R.; JACOBS, J.L.; KEARNEY, G. The long-term impact of nitrogen fertilizer on perennial ryegrass tiller and white clover growing point densities in grazed dairy pastures in south-western Victoria. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 53, p. 1203-1209, 2002.

MIGGE, A.; BORK, C.; HELL, R.; BECKER, T.W. Negative regulation of nitrate reductase gene expression by glutamine or asparagines accumulating in leaves of sulfur-deprived tobacco. **Planta**, New York, v. 211, p. 587-595, 2000.

MILLARD, P.; SAHARP, G.S.; SCOTT, N.M. The effect of sulphur deficiency on the uptake and incorporation of nitrogen in ryegrass. **Journal of Agricultural Science**, New York, v. 105, p. 501-504, 1985.

MILLER, A.J.; FAN, X.; ORSEL, M.; SMITH, S.J.; WELLS, D.M. Nitrate transport and signaling. **Journal of Experimental Botany**. Nitrogen Nutrition, Oxford, v. 58, p. 2297-2306, 2007. Special issue.

MONTEIRO, F.A. **Sulphur fertilization and nutrient distribution in a Florida Spodosol profile under white clover – Pensacola bahiagrass**. 1986. 182 p. Thesis (Doctor of Philosophy in Soil Science) – University of Florida, Gainesville, 1986.

NIKIFOROVA, V.J.; BIELECKA, M.; GAKIÈRE, B.; KRUEGER, S.; RINDER, J.; KEMPA, S.; MORCUENDE, R.; SCHEIBLE, W.-R.; HESSE, H.; HOEFGEN, R. Effect of sulfur availability on the integrity of amino acid biosynthesis in plants. **Amino Acids**, New York, v. 30. p. 173-183, 2006.

ONGARO, V.; LEYSER, O. Hormonal control of shoot branching. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 59, p. 67-74, 2007.

PREMAZZI, L.M.; MONTEIRO, F.A.; CORRENTE, J.E. Tillering of Tifton 85 Bermudagrass in response to nitrogen rates and time of application after cutting. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, p. 565-571, 2003.

PROSSER, I.A.; PURVES, J.V.; SAKER, L.R.; CLARKSON, D.T. Rapid disruption of nitrogen metabolism and nitrate transport in spinach plants deprived of sulphate. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, p. 113-121, 2001.

RAHAYU, Y.S.; WALCH-LIU, P.; NEUMANN, G.; RÖMHELD, V.; von WIRÉN; BANGERTH, F. Root-derived cytokinins as long-distance signals for NO_3^- induced stimulation of leaf growth. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, p. 1143-1152, 2005.

REICH, P.B.; BUSCHENA, C.; TJOELKER, M.G.; WRAGE, K.; KNOPS, J.; TILMAN, D.; MACHADO, J.L. Variation in growth rate and ecophysiology among 34 grasslands and savanna species under contrasting N supply: a test of functional group differences. **New Phytologist**, Oxford, v. 157, p. 617-631, 2003.

SAMUELSON, M.E.; LARSSON, C. Nitrate regulation of zeatin riboside levels in barley roots: effects of inhibitors of N assimilation and comparison with ammonium. **Plant Science**, Shannon, v. 93, p. 77-84, 1993.

SANTOS, J.H.S. **Proporções de nitrato e amônio na nutrição e produção dos capins Aruana e Marandu**. 2003. 81 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

SAS INSTITUTE. **SAS® 9.1.2 windows**. Cary, 2004. 2 CD-ROM.

SCHÜLLER, H. Die CAL-Methode, eine neue Methode zur Bestimmung des pflanzenverfügbaren Phosphates in Böden. **Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde**, Weinheim, v. 123, p. 48-63, 1969.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Tradução de E.R. Santarém et al. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

THOMAS, S.G.; BILSBORROW, P.E.; HOCKING, T.J.; BENNETT, J. Effect of sulphur deficiency on the growth and metabolism of sugar beet (*Beta vulgaris* cv Druid). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New York, v. 80, p. 2057-2062, 2000.

TOMATSU, H.; TAKANO, J.; TAKAHASHI, H.; WATANABE-TAKAHASHI, A.; SHIBAGAKI, N.; FUJIWARA, T. An Arabidopsis thaliana high-affinity molybdate transporter required for efficient uptake of molybdate from soil. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 104, p. 18807-18812, 2007.

VERMUNT, J.; VISSER, R. Nitrate toxicity in cattle. **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v. 35, p. 136-137, 1987.

WALCH-LIU, P.; NEUMANN, G.; BANGERTH, F.; ENGELS, C. Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 227-237, 2000.

WANG, X.; BELOW, F.E. Root growth, nitrogen uptake, and tillering of wheat induced by mixed nitrogen source. **Crop Science**, Madison, v. 32, p. 997-1002, 1992.

_____. Cytokinins in enhanced growth and tillering of wheat induced by mixed nitrogen source. **Crop Science**, Madison, v. 36, p. 121-126, 1996.

WEISKE, A.; BENCKISER, G.; OTTOW, J.C.G. Effect of the new nitrification inhibitor DMPP in comparison to DCD on nitrous oxide (N₂O) emissions and methane (CH₄) oxidation during 3 years of repeated applications in field experiments. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 60, p. 57-64, 2001.

WRIGHT, M.J.; DAVISON, K.L. Nitrate accumulation in crops and nitrate poisoning in animals. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 16, p. 197-274, 1964.

7 CONCLUSÕES GERAIS

A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre na adubação mostrou significância para as variáveis área foliar total, número de perfilhos, massa seca da parte aérea, concentração de nitrogênio e relação N:S na planta, e teores de nitrogênio total e enxofre-sulfato do solo em pelo menos um dos três ciclos de crescimento da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em fase de estabelecimento. O suprimento de enxofre maximizou os efeitos da adubação nitrogenada na produção da planta. O uso de altas doses de nitrogênio na ausência de enxofre promoveram desequilíbrio nutricional da planta, evidenciado por altas relações N:S na parte aérea do capim.

A combinação de nitrogênio com enxofre visando balancear a relação N:S no fertilizante em aproximadamente 10:1 promoveu elevada produção de massa seca, com concentrações de nitrogênio e de enxofre adequadas para o metabolismo da planta e produção de forragem, bem como manteve e/ou incrementou a fertilidade do solo em relação a esses elementos.

Seguindo o padrão de variação dos parâmetros produtivos, a adubação com os nutrientes nitrogênio e enxofre influenciou positivamente o consumo e a eficiência do uso da água pela *Brachiaria brizantha* cv. Marandu na fase de estabelecimento da pastagem, sendo que o fornecimento simultâneo de doses de nitrogênio e de enxofre na relação 9,6:1 a 10,4:1 foi o mais efetivo. A utilização de adubo nitrogenado mostrou-se relevante no incremento da eficiência do uso da água pela *Brachiaria brizantha* cv. Marandu no período de implantação da gramínea forrageira.

A matéria orgânica do solo não foi alterada pela combinação de doses de nitrogênio e de enxofre na adubação do capim-Marandu. O uso de adubo nitrogenado no cultivo desse capim promoveu a acidificação do solo durante os ciclos de crescimento da planta.

A extração dos nutrientes nitrogênio e enxofre do solo pela *Brachiaria brizantha* cv. Marandu teve significância da interação doses de nitrogênio x doses de enxofre. Doses elevadas de nitrogênio combinadas com baixas doses de enxofre na adubação diminuíram consideravelmente o nitrogênio absorvido pelas plantas, o que culminou com altos teores de nitrogênio na forma nítrica no solo sujeitos à lixiviação. Os teores de

nitrogênio total e das formas nítrica e amoniacal do solo foram alteradas em função do nitrogênio adicionado via adubação e da remoção pelas plantas.

Os incrementos no enxofre mineral do solo devido à adubação sulfatada se refletiram no aumento da fração enxofre-éster no solo cultivado com a *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. A adubação combinada de nitrogênio e de enxofre não alterou o enxofre orgânico total do solo, constatando-se apenas interconversão do elemento enxofre entre as frações orgânicas, de acordo com o tempo. A fração enxofre orgânico residual do solo mostrou-se como potencial fonte de enxofre na nutrição do capim-Marandu.

Os estudos com a planta-modelo de gramínea *Hordeum vulgare* permitiram concluir que as alterações no metabolismo e fisiologia das gramíneas advindas da interação nitrogênio x enxofre são dependentes da forma de nitrogênio disponibilizada à planta. O fornecimento de nitrogênio na forma de nitrato às plantas de *Hordeum vulgare* aumentou os efeitos deletérios da limitação de enxofre ao diminuir a atividade da redutase do nitrato e aumentar a concentração de nitrato e aminoácidos livres (principalmente asparagina e glicina) no tecido vegetal. O uso de doses elevadas de nitrato implicou na necessidade de incremento proporcional nas doses de enxofre para aumentar a atividade da enzima redutase do nitrato na parte aérea das plantas de *Hordeum vulgare*.