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

Formas de nitrogênio e doses de potássio no capim-marandu: atributos morfológicos, produtivos, nutricionais e bioquímicos e transformações do nitrogênio em um Neossolo

Marcio Mahmoud Megda

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

**Piracicaba
2013**

Marcio Mahmoud Megda
Engenheiro Agrônomo

Formas de nitrogênio e doses de potássio no capim-marandu: atributos morfológicos, produtivos, nutricionais e bioquímicos e transformações do nitrogênio em um Neossolo
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **FRANCISCO ANTONIO MONTEIRO**

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Ciências. Área de Concentração:
Solos e Nutrição de Plantas

Piracicaba
2013

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

Megda, Marcio Mahmoud

Formas de nitrogênio e doses de potássio no capim-marandu: atributos morfológicos, produtivos, nutricionais e bioquímicos e transformações do nitrogênio em um Neossolo / Marcio Mahmoud Megda. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2013.
119 p: il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.

1. Amônio 2. Aminoácido 3. Aminoaçúcar 4. *Brachiaria brizantha* 5. Clorofila
6. Nitrato 7. Nitrogênio orgânico hidrolisado 8. Produção de forragem 9. Putrescina
I. Título

CDD 633.2
M496f

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

Aos meus pais **Valdir Reis Megda** e **Sandra Irabi Mahmoud**, por confiarem, incentivarem e me apoiarem em todos os momentos da minha vida. A vocês minha grande admiração;

À minha amada esposa Michele Megda, pelo amor, carinho, companheirismo, cumplicidade e incentivo nas horas difíceis. A você minha admiração e eterno amor;

Aos meus tios Valdir Antônio Garcia e Sheila Irabi Mahmoud Garcia, por terem me tratado como filho, proporcionando tranquilidade nos momentos difíceis e contribuindo para minha formação. A vocês a minha eterna gratidão;

Ao meu irmão Rustain, pelo carinho em todos os momentos;

Aos meus avos maternos Yahya e Shamira *in memoriam*, pelo carinho, apoio e incentivo a nunca parar de estudar. A vocês minha infinita saudade;

Aos meus avos paternos Domingos e Áurea, pela doação, amor, exemplo de vida, caráter e integridade. A vocês meu amor incondicional;

A toda minha família, em especial aos meus tios, primos, sogro e sogra.

OFEREÇO E DEDICO

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, acima de tudo, por proporcionar o dom da vida e iluminar e guiar nos caminhos nem sempre fáceis de serem trilhados;

Ao Professor Francisco Antonio Monteiro, pela oportunidade, orientação, auxílio, compreensão e ensinamentos transmitidos durante o Estágio, Mestrado e o Doutorado. O meu respeito e gratidão;

Aos professores Richard Lesley Mulvaney e Saeed Ahmed Khan da Universidade de Illinois em Urbana-Champaign, Estados Unidos pela orientação no estágio de Doutorado-Sanduiche, e em especial pelo exemplo de vida, confiança, amizade e por todos os conhecimentos transmitidos, que contribuíram significativamente para a minha formação;

Aos professores Salatiér Buzetti e Morel de Passos e Carvalho, da UNESP/Ilha Solteira, orientadores na graduação, responsáveis, por me despertar o interesse na pesquisa e pelo incentivo em buscar a pós-graduação;

Aos professores Paulo Cesar Ocheuze Trivelin pelos conhecimentos transmitidos e incentivos a sempre buscar o melhor, fundamental na minha formação, e Luiz Carlos Basso pelo auxílio na compreensão/determinação das diaminas e poliaminas e ao pesquisador Heitor Cantarella pela orientação com o uso do inibidor da enzima urease NBPT;

Aos funcionários do Departamento de Ciência do Solo: Edinéia Mondoni, Lúcia Forti, Lurdes González, Luiz Silva, Marta Campos, Nivanda Ruiz e Sueli Bovi, pela atenção e apoio dispensados;

Aos amigos Adriana Artur, Beatriz Nastaro, Carla Elisa Bastos, Carlos Taniguchi, Cristiane Silveira, Diana Signor, Elisângela Dupas, Fabiana Schmidt, Fabiano Daniel De Bona, Gregori Ferrão, Juliane Garcez, Magnus Deon e Tiago Garcez pelo companheirismo, partilha dos conhecimentos e momentos de descontração;

A todos os amigos estrangeiros e brasileiros dos Estados Unidos, em especial ao casal Marcio Arruda e Thaís Zimbres, pela grande amizade e dedicação;

Aos amigos Diogo Carneiro Melo, Emiliana Romagnoli, Hudson Silva e Weliton Dias da Silva pela convivência fraterna;

A todos os professores do Programa em Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas que, direta ou indiretamente, auxiliaram na minha formação acadêmica e na elaboração dessa Tese;

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, bem como ao Departamento de Ciência do Solo, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado e Doutorado;

À Universidade de Illinois em Urbana-Champaign, Estados Unidos, pela oportunidade de realização do Doutorado-Sanduíche;

Ao CNPq e à CAPES pela concessão das bolsas de estudos no Brasil e à CAPES pela concessão da bolsa de estudos nos exterior;

Às pessoas que contribuíram, direta ou indiretamente, para realização desta tese.

"Não existem verdades, só interpretações."

Henrique George Mautner cantor, compositor e escritor

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 Pastagens no Brasil.....	17
2.2 Nitrogênio no solo.....	17
2.3 Potássio no solo.....	19
2.4 Nitrogênio em plantas forrageiras.....	21
2.5 Potássio em plantas forrageiras.....	24
2.6 Diaminas e poliaminas.....	26
Referências	29
3 MORFOLOGIA E PRODUÇÃO DO CAPIM-MARANDU INFLUENCIADAS PELO FORNECIMENTO DE FORMAS DE NITROGÊNIO E DOSES DE POTÁSSIO.....	39
Resumo.....	39
Abstract.....	39
3.1 Introdução.....	40
3.2 Material e métodos.....	41
3.2.1 Local de estudo, características químicas do solo, condições de crescimento e delineamento experimental.....	41
3.2.2 Uso de inibidores, adubação com macro e micronutrientes, sistema de irrigação e avaliações dos parâmetros morfológicos e produtivos da parte aérea.....	42
3.2.3 Avaliação dos parâmetros morfológicos e produtivos das raízes.....	43
3.2.4 Análise estatística.....	44
3.3 Resultados e discussão.....	44
3.3.1 Número de perfilhos e de folhas e massa seca da parte aérea.....	44
3.3.2 Área foliar.....	49
3.3.3 Produção de massa seca, comprimento e superfície radicular.....	51
3.3.4 Sintomas de deficiência de nitrogênio e potássio.....	58
3.4. Conclusões.....	59
Referências.....	59
4 FORMAS DE NITROGÊNIO E DOSES DE POTÁSSIO ALTERANDO O ESTADO NUTRICIONAL DO CAPIM-MARANDU.....	67
Resumo.....	67
Abstract.....	67
4.1 Introdução.....	68
4.2 Material e métodos.....	69
4.2.1 Local, espécie e solo.....	69
4.2.2 Condições de crescimento, delineamento experimental e disponibilidade de nutrientes.....	70
4.2.3 Concentrações de nitrogênio total, nitrato, amônio, potássio e clorofila, valor SPAD e atividade da enzima redutase do nitrato.....	71
4.2.4 Concentrações de poliaminas e de prolina.....	72
4.2.5 Análise estatística.....	73
4.3 Resultados e discussão.....	73
4.3.1 Concentração de nitrogênio e de potássio nas folhas diagnósticas.....	73
4.3.2 Valor SPAD e relação clorofila x nitrogênio total.....	77
4.3.3 Redutase do nitrato e concentrações de nitrato e amônio.....	79

4.3.4 Poliaminas e prolina.....	82
4.4 Conclusões.....	89
Referências.....	89
5 TRANSFORMAÇÕES DO NITROGÊNIO EM NEOSSOLO RECEBENDO FORMAS DE NITROGÊNIO E MATERIAL VEGETAL DE CAPIM-MARANDU.....	97
Resumo.....	97
Abstract.....	97
5.1 Introdução.....	98
5.2 Material e métodos.....	99
5.2.1 Local de estudo e características do solo.....	99
5.2.2 Tratamentos e condução do experimento.....	99
5.2.3 Determinação do nitrogênio inorgânico e orgânico do solo.....	101
5.2.4 Determinação do ¹⁵ N.....	102
5.2.5 Determinação do carbono.....	103
5.2.6 Cálculo do balanço do nitrogênio mineral do solo.....	103
5.2.7 Análise estatística.....	104
5.3 Resultados e discussão.....	104
5.3.1 Teores de nitrato e amônio.....	104
5.3.2 Balanço de nitrogênio e ¹⁵ N-inorgânico.....	107
5.3.3 Frações do nitrogênio orgânico.....	111
5.3.4 Carbono orgânico.....	113
5.4 Conclusões.....	115
Referências.....	115
6 CONCLUSÕES GERAIS.....	119

RESUMO

Formas de nitrogênio e doses de potássio no capim-marandu: atributos morfológicos, produtivos, nutricionais e bioquímicos e transformações do nitrogênio em um Neossolo

A disponibilidade de nitrogênio no solo e o fornecimento de doses de potássio podem alterar a nutrição do capim-marandu, com reflexos diretos na morfologia, atividade de enzimas e acúmulo de poliaminas nas plantas. Objetivou-se: i) identificar a forma de nitrogênio e a dose de potássio que promovem a maximização dos atributos morfológicos da parte aérea e das raízes e, conseqüentemente, a produção de forragem do capim-marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu); ii) avaliar as concentrações de nitrogênio, nitrato, amônio, potássio, prolina, poliaminas e clorofila, além do valor SPAD e da redutase do nitrato nas folhas diagnósticas, em função da adubação de formas de nitrogênio com doses de potássio e iii) quantificar as transformações do nitrogênio do solo, em função da aplicação de formas de nitrogênio e adição de material vegetal de capim-marandu. Os experimentos foram realizados em duas etapas: a) em casa de vegetação onde as plantas de capim-marandu foram cultivadas em solo classificado como Neossolo Quartzarênico. Quatro formas de nitrogênio (nitrato, amônio, 70% nitrato+30% amônio e amídica) mais controle e quatro doses de potássio (0, 150; 300 e 450 mg dm⁻³) foram combinados em um fatorial completo 5x4. As unidades experimentais consistiram em 80 vasos e o delineamento experimental foi o de blocos inteiramente casualizados, com quatro repetições; b) em laboratório, seis combinações envolvendo formas de nitrogênio (nitrato e amônio enriquecidos com ¹⁵N e controle) e presença/ausência de material vegetal de capim-marandu foram avaliados em incubação aeróbica. Cada combinação foi repetida três vezes e todos foram incubados por oito períodos de avaliação (0, 1, 2, 4, 8, 12, 16 e 20 semanas) com o Neossolo Quartzarênico, em delineamento completamente causalizado. Os resultados demonstraram que o fornecimento de nitrogênio associado ao de potássio foi fundamental para elevar a produção de forragem e das raízes e a concentração desses elementos nas folhas diagnósticas do capim-marandu. A forma nitrato+amônio, na dose de potássio de 450 mg dm⁻³, proporcionou mais elevada área foliar, a qual foi determinante no incremento da produção de forragem. O fornecimento das formas de nitrato, nitrato+amônio e amídica, associados à máxima dose de potássio proporcionaram incrementos nos números de perfilhos e folhas, área foliar, e conseqüentemente na produção de forragem. O não fornecimento de nitrogênio e a aplicação na forma de amônio proporcionaram as mais baixas produções de forragem. O incremento das doses de potássio reduziu os sintomas de toxicidade de amônio nas plantas de capim. Os atributos produtivos do sistema radicular foram alterados positivamente pelas formas nitrato, nitrato+amônio e amídica e pelas doses de potássio. O valor SPAD foi incrementado pelas formas nitrato, nitrato+amônio e amídica e a aplicação de potássio de 336 mg dm⁻³ que resultou em 38 unidades SPAD. A concentração de clorofila de 35 µg g⁻¹ correspondeu à de nitrogênio total de 22,5 g kg⁻¹. A enzima redutase do nitrato teve sua atividade aumentada com o incremento das doses de potássio e o fornecimento de nitrato+amônio. As concentrações de putrescina, espermidina, espermina e prolina aumentaram mediante o fornecimento de amônio e diminuíram com incremento das doses de potássio. Os baixos teores de ¹⁵NH₄⁺ no solo após a segunda semana permitiram verificar que todo amônio foi imobilizado pelos microrganismos do solo, em todas as combinações. A aplicação de amônio, com material vegetal de capim-marandu, resultou nos mais elevados teores de amônio, aminoácido, aminoácúcar e nitrogênio total hidrolisados.

Palavras-chave: Amônio; Aminoácido; Aminoácúcar; *Brachiaria brizantha*; Clorofila;

Nitrato; Nitrogênio orgânico hidrolisado; Produção de forragem; Putrescina

ABSTRACT

Nitrogen forms and potassium rates on Marandu palisadegrass: morfologic, productive, nutritional and biochemical attributes and nitrogen transformations in an Entisol

Soil nitrogen availability and potassium supply rates can influence Marandu palisadegrass nutrition, with direct effect on the morphology, enzyme activity and polyamines accumulation in plants. This study aimed to: i) identify the nitrogen form and the potassium rate that maximizes the morphological attributes of shoots and roots, and consequently, the forage production of Marandu palisadegrass (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu), ii) evaluate the nitrogen, nitrate, ammonium, potassium, proline, polyamines and chlorophyll concentration, as well as the SPAD value and the nitrate reductase activity in diagnostic leaves, as a function of nitrogen forms and potassium rates, and iii) quantify the soil nitrogen changes according to different forms of nitrogen and addition of Marandu residue. The experiments were carried out in two stages: a) in a greenhouse, where Marandu plants were grown in an Entisol. Four nitrogen forms (nitrate, ammonium, 70% nitrate+30% ammonium, urea) plus the control (no nitrogen) and four potassium rates (0, 150, 300 and 450 mg dm⁻³) were arranged in a 5x4 complete factorial design. The experimental units consisted on 80 pots. The twenty combinations were evaluated in a completely randomized block design with four replications; b) in the laboratory experiment, six combinations involving three forms of N (nitrate and ammonium enriched with ¹⁵N atoms 1% and no nitrogen) and Marandu residue (presence/absence) were evaluated using aerobic incubation. Each combination was replicated three times and incubated under eight incubation periods (0, 1, 2, 4, 8, 12, 16 and 20 weeks) in an Entisol. In total, 144 experimental units were evaluated using a completely randomized design. The results from the first experiment showed that nitrogen supply associated with potassium rates were important for increasing the forage and roots biomass and the concentration of these elements in the diagnostic leaves. Nitrate+ammonium and potassium at 450 mg dm⁻³ provided with the largest leaf area, which was decisive for high forage production. The supply of nitrate, nitrate+ammonium and urea, associated with the maximum potassium rate resulted in increased number of tillers, leaves, leaf area, and consequently, increased forage production. Combinations involving ammonium and no nitrogen provided with the lowest forage production. High potassium rates were associated with less ammonium toxicity symptoms on the plants. The productive attributes of the root system were positively modified by nitrate, nitrate+ammonium and urea and by the high potassium rates. The SPAD value increased with nitrate, nitrate+ammonium and urea and potassium at 336 mg dm⁻³ resulted in 38 SPAD units. Chlorophyll concentration of 35 mg g⁻¹ corresponded to a total nitrogen concentration of 22.5 g kg⁻¹. Nitrate reductase activity increased with higher potassium rates and nitrate+ammonium supply. Higher concentrations of putrescine, spermidine, spermine and proline were observed with ammonium supply, but they decreased with higher potassium rates. The low concentration of ¹⁵NH₄⁺ in the soil after the second week indicates that all ammonium was immobilized by soil microorganisms, for all combinations. The application of ammonium in combination with Marandu residue resulted in higher concentration of ammonium, amino acid, amino sugar and total nitrogen hydrolysates.

Keywords: Ammonium; Amino acid; Amino sugar; *Brachiaria brizantha*; Chlorophylla; Forage production; Hydrolyzable organic nitrogen; Nitrate; Putrescine

1 INTRODUÇÃO

O fornecimento de nutrientes, por meio da aplicação de fertilizantes, visa atender as necessidades nutricionais e promover o desenvolvimento das plantas, com consequente incremento da produção vegetal. O capim-marandu está entre as gramíneas mais cultivadas no Brasil Central, região que é responsável por cerca de 40% da produção nacional de carne bovina. Considerando a importância dessas pastagens, torna-se evidente a necessidade de atenção para o manejo da fertilidade do solo, a prática da adubação, o conhecimento das exigências nutricionais das plantas e a produção de mais massa de forragem com mais elevado valor nutritivo.

O emprego de fertilizantes nitrogenados aumenta a capacidade produtiva das pastagens e mantém a produção de forragem em pastagens implantadas. Entretanto, faz-se necessária a avaliação de outros fatores que podem limitar o incremento da produção de forragem, como por exemplo, o fornecimento de potássio. Sabe-se que os capins tropicais apresentam alta capacidade de resposta à adubação potássica quando são fornecidos fertilizantes nitrogenados. Dessa forma, é nítida necessidade do estudo de formas mais eficientes de nitrogênio e sua relação com as doses de potássio. Estudos que envolvam a melhoria da eficiência de aproveitamento do nitrogênio oriundo da ureia são imprescindíveis e apesar do nitrato de amônio ser uma fonte de nitrogênio de maior custo, pesquisas têm mostrado que o fornecimento de nitrogênio nas formas de nitrato e amônio pode trazer vantagens para as plantas. Assim, a influência do nitrogênio no incremento da produção das gramíneas não se limita à quantidade aplicada, mas também às formas fornecidas à planta, pois podem alterar a produtividade das pastagens.

A adubação nitrogenada, por vezes, tem proporcionado produção de forragem abaixo da esperada em virtude de inadequada disponibilidade de potássio no solo. Plantas deficientes em potássio acumulam poliaminas, que são compostos nitrogenados envolvidos nos processos de divisão celular, desenvolvimento, crescimento, senescência e regulação do metabolismo dos ácidos nucleicos. A concentração de poliaminas varia quando as plantas estão sob estresse, principalmente o nutricional. Em anos recentes, tem aumentado o número de pesquisas que tratam desses compostos nitrogenados. No entanto, com espécies de plantas forrageiras ainda são escassos estudos que mostrem a relação entre o suprimento de formas de nitrogênio e doses de potássio e o acúmulo de poliaminas e prolina, associando esse acúmulo a atributos produtivos, nutricionais e bioquímicos dessas plantas.

Outro aspecto de relevância é o entendimento da dinâmica das frações de nitrogênio do solo, uma vez que essas informações podem ajudar a tornar mais eficiente a adubação

nitrogenada e a nutrição nitrogenada das plantas. A mineralização do nitrogênio orgânico do solo é o processo de maior importância pelo qual o nitrogênio orgânico é convertido para formas disponíveis para as plantas e esse processo é mediado pelos microrganismos do solo. Assim, o amônio (produto da mineralização) está sujeito à utilização pelos microrganismos heterotróficos (imobilização), mas quando a quantidade de carbono orgânico está limitada, pode ocorrer oxidação autotrófica (nitrificação), produzindo nitrato (que fica disponível às plantas). Dessa forma, o fornecimento de formas de nitrogênio e material vegetal de capim-marandu como fonte de carbono podem alterar as transformações do nitrogênio no solo, afetando a disponibilidade de nitrogênio para as plantas.

Nesse contexto, a aplicação de formas de nitrogênio e doses de potássio é estratégica para o incremento da produção das gramíneas forrageiras. As hipóteses testadas nesse estudo foram: i) o fornecimento conjunto de formas de nitrogênio e doses de potássio pode alterar os atributos morfológicos e produtivos do capim-marandu, com reflexos na produção de forragem; ii) avaliar as concentrações de nitrogênio total, nitrato, amônio, potássio, prolina e poliaminas, o valor SPAD e a atividade da redutase do nitrato nas folhas diagnósticas do capim-marandu, além de correlacionar a concentração de clorofila com a concentração de nitrogênio nas folhas, em função da adubação com formas de nitrogênio e com doses de potássio e iii) a aplicação de formas de nitrogênio e de material vegetal de capim-marandu podem alterar as transformações e a dinâmica das frações de nitrogênio do solo.

O objetivo geral foi identificar a adubação com formas de nitrogênio e doses de potássio que modifica os atributos morfológicos, produtivos, nutricionais e bioquímicos da parte aérea e das raízes, afetados por alterações fisiológicas e metabólicas, com reflexos favoráveis na produção de forragem do capim-marandu e estudar as transformações do nitrogênio do solo em função da aplicação de formas de nitrogênio e material vegetal de capim-marandu. Os objetivos específicos foram: a) identificar a forma de nitrogênio e a dose de potássio que promove a maximização dos atributos morfológicos da parte aérea e das raízes e a produção de forragem do capim-marandu; b) relacionar as concentrações de nitrogênio, potássio, nitrato e amônio nas folhas diagnósticas do capim-marandu com atividade da enzima redutase do nitrato, valor SPAD e concentração de clorofila, em função do suprimento de formas de nitrogênio e doses de potássio; d) determinar as concentrações de poliaminas e prolina nas folhas diagnósticas, e correlacionar a concentração de putrescina com a produção de forragem do capim-marandu e e) avaliar as transformações do nitrogênio inorgânico e orgânico do solo, bem como os teores das frações de nitrogênio do solo em função da aplicação de formas de nitrogênio e material vegetal de capim-marandu.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Pastagens no Brasil

As pastagens naturais ou cultivadas constituem a principal fonte de alimentação do rebanho bovino brasileiro, onde pelo menos 90% dos bovinos tem sua exploração produtiva apoiada. As pastagens compreendem 210 milhões de hectares, dos quais pelo menos metade apresenta algum grau de degradação (SANO et al., 2010; FERREIRA et al., 2013). Essa área representa mais de 20% de todo o território nacional e somente a região do Cerrado Brasileiro é responsável pela produção de 2,5 milhões de toneladas de carne bovina por ano, ou seja 40% da produção nacional (FERREIRA et al., 2013). Do total da área de pastagens no Brasil, aproximadamente 55% são cultivadas, predominando os capins do gênero *Brachiaria* (FERRAZ, 2003), os quais são amplamente disseminados pelo território nacional devido a grande adaptabilidade às variadas condições de clima e solo (KELLER-GREIN et al., 1996).

O capim-marandu, é uma gramínea pertencente ao gênero *Brachiaria*, com nome científico de *Brachiaria brizantha* (Hochst ex A. RICH.) STAPF. cv. Marandu. É originária de região vulcânica da África, com precipitação pluvial anual ao redor de 700 mm e cerca de oito meses de seca no inverno, sendo recomendada para solos de média a alta fertilidade. É uma planta cespitosa, muito robusta, de 1,5 a 2,5 m de altura, com colmos iniciais prostrados e perfilhos predominantemente eretos. O capim-marandu apresenta as seguintes características desejáveis: tolerância a solos com baixo pH e altos teores de alumínio; elevada produção de forragem e capacidade de rebrotação; tolerância à seca; elevada persistência e resistência à cigarrinha das pastagens (NUNES; BOOCK e PENTEADO, 1985).

2.2 Nitrogênio no solo

A ciclagem do nitrogênio apresenta dinâmica complexa devido às múltiplas transformações e pela mobilidade desse nutriente no sistema solo-planta-atmosfera. Assim, os fertilizantes nitrogenados aplicados no solo passam por uma série de transformações químicas e microbianas, que podem resultar em perdas de nitrogênio dos agrossistemas. O entendimento do balanço dessas transformações é específico para cada condição de solo, clima e cultura, de modo que se faz necessário minimizar as perdas (CANTARELLA, 2007).

O nitrogênio no solo está sujeito a grande número de reações, tais como mineralização/imobilização, nitrificação/amonificação e desnitrificação, que resultam em transformações de formas orgânicas em inorgânicas e vice-versa, culminando em ganhos ou perdas do sistema como um todo (RAIJ, 2011). A mineralização do nitrogênio é a transformação do nitrogênio orgânico para a forma inorgânica, em processo que é mediado

por microrganismos heterotróficos do solo, os quais utilizam os compostos orgânicos como fonte de energia. A imobilização é um processo que ocorre concomitantemente com a mineralização, porém no sentido inverso. A imobilização é definida como a transformação do nitrogênio inorgânico em orgânico, e mais uma vez os microrganismos são responsáveis, incorporando o nitrogênio disponível em suas células (CANTARELLA, 2007).

A nitrificação é uma sequência do processo de mineralização e é definida como a oxidação do nitrogênio amoniacal a nitrato, enquanto a amonificação consiste na liberação de amônia do processo de decomposição microbiana, a qual resulta da quebra hidrolítica de proteínas e aminoácidos (BOER; KOWALCHUK, 2001). A desnitrificação é uma forma de perda de nitrogênio para a atmosfera, uma vez que os microrganismos utilizam óxidos de nitrogênio como aceptores finais de elétrons (FIRESTONE, 1982). A ureia aplicada no solo passa por hidrólise enzimática liberando o nitrogênio amoniacal, em reação que consome prótons (H^+) e provoca a elevação do pH no solo. Dessa forma o nitrogênio da ureia pode ser perdido por volatilização (CAMERON; DI e MOIR, 2013). Cantarella et al. (2001), avaliando as perdas de nitrogênio por volatilização em pastagens de capim-coastcross (*Cynodon dactylon* cv. Coastcross), encontraram perdas de ureia por volatilização na ordem de 61 %.

As pesquisas têm indicado que solos sustentando *Brachiaria* têm se mostrado diferentes de outras culturas, no que diz respeito aos teores de nitrato e amônio. Embora sejam solos bem aerados, diversos estudos registraram teores mais elevados de amônio do que os de nitrato no solo (ISHIKAWA et al., 2003; BONFIM-DA-SILVA, 2005; BATISTA, 2006). Esse fato é atribuído a compostos fenólicos (GOPALAKRISHNAN et al., 2007) exsudados pelas raízes de *Brachiaria*, em especial a *Brachiaria humidicola*, que pode exsudar esses compostos e inibir o processo de nitrificação no solo (SUBBARAO et al., 2006). Nesse contexto, estudos que quantifiquem o nitrogênio mineralizado a partir da fração orgânica do solo são de grande interesse, visto que a matéria orgânica é o principal reservatório de nitrogênio para as plantas e pode afetar os teores de nitrogênio na solução do solo. Desse modo, métodos biológicos, caracterizados por incubações de solos em condições aeróbias em laboratório (KEENEY; BREMNER, 1966; STANFORD; SMITH, 1972), podem determinar o nitrogênio potencialmente mineralizável.

A baixa disponibilidade de nitrogênio nos solos se deve ao fato de que 95% do nitrogênio total do solo está na forma orgânica e apenas pequena parte pode ser mineralizada durante o ciclo curto de uma cultura (BREMNER; KEENEY, 1965; CANTARELLA, 2007). O fornecimento de formas e doses de nitrogênio pode modificar as taxas de mineralização e imobilização de nitrogênio no solo e o entendimento dessas modificações é de suma

importância para a nutrição das plantas. As formas orgânicas do nitrogênio nos solos são determinadas mediante a quantificação dos compostos orgânicos liberados por meio da hidrólise ácida. O nitrogênio no hidrolisado é separado nas seguintes frações: N-total hidrolisável, N-NH₄⁺ hidrolisável, N-aminoácidos, N-aminoaçúcares e N-não identificado (MULVANEY; KHAN, 2001).

Com o conhecimento das frações de nitrogênio do solo pode-se entender melhor os processos de imobilização/mineralização, bem como obter um índice de disponibilidade desse nutriente para as plantas (OSBORNE, 1977). De forma geral, pequena fração do nitrogênio total do solo que se encontra prontamente disponível às plantas está nas formas de amônio e nitrato (BREMNER, 1996; RAIJ, 2011), com predomínio dessa última em condições aeróbias. Vários métodos têm sido propostos para quantificar o nitrogênio orgânico no solo e, entre eles, está o fracionamento químico baseado na hidrólise do nitrogênio do solo com ácidos e aquecimento da amostra sob refluxo. Assim como o teor de nitrogênio inorgânico, o teor de nitrogênio orgânico do solo também está estritamente relacionado com a nutrição das plantas, sendo necessários estudos que ajudem a elucidar tais dinâmicas no sistema solo-planta.

Outro importante ponto que deve ser levado em consideração é a influência que as entradas de carbono no solo têm nas taxas de transformações do nitrogênio no solo (BURGER; JACKSON, 2003). Em alguns solos agrícolas a imobilização do nitrogênio pode ocorrer rapidamente, enquanto que em outros a imobilização pode ocorrer depois de semanas ou até meses (SCHIMEL, 1986; SHI; NORTON, 2000). Todas essas transformações do nitrogênio no solo são mediadas pelos sistemas enzimáticos dos microrganismos, que requerem carbono e energia. A relação carbono:nitrogênio dos resíduos que são depositados sobre o solo é um importante indicador que pode ser utilizado para inferir a respeito da qualidade do material orgânico que será decomposto. A relação carbono:nitrogênio regula a direção das reações entre mineralização/imobilização do nitrogênio (CANTARELLA, 2007). Assim, relação carbono:nitrogênio em torno de 40 indica que a imobilização do nitrogênio será o processo mais atuante, resultando na depleção dos *pools* de nitrogênio do solo, enquanto que relação carbono:nitrogênio em torno de 20 resultará em processo de mineralização do nitrogênio (RECOUS et al., 1990).

2.3 Potássio no solo

Os teores de potássio no solo são variáveis em função do material de origem, que ao intemperizar libera os nutrientes, entre os quais está o potássio. Entre os minerais primários,

os feldspastos são facilmente intemperizáveis, seguidos das micas, biotita e da muscovita, a partir das quais forma-se a illita (SIMONSSON et al., 2007; LI et al., 2010). A absorção de potássio pelas raízes das plantas é influenciada pelos teores de potássio no solo (ZHANG et al., 2010). A quantidade de potássio absorvida pelas plantas depende da produção esperada, tipo de solo, liberação do potássio fixado nos minerais, exportação pela cultura e forma de nitrogênio utilizada (YADVINDER; BIJAY e TIMSINA, 2005; SUBASINGHE, 2006). Mesmo solos com elevados teores de potássio podem se tornar exauridos nesse nutriente, em condições de não suprimento com adubos potássicos, devido à continua remoção durante a absorção pelas culturas e possível exportação, dependendo do manejo empregado (RUPA et al., 2001; CAI; QIN, 2006). A ciclagem e a disponibilidade de potássio diferem substancialmente entre os tipos de solo, especialmente no caso dos Neossolos que apresentam baixo teor de argila. Assim, o potássio pode ser muito lixiviado e até tornar-se fator limitante para fornecimento às plantas, mesmo com aplicação de altas doses desse nutriente (KAYSER; ISSELSTEIN, 2005).

Outra importante questão da relação nitrogênio com potássio, em especial ureia e cloreto de potássio é que o fornecimento conjunto desses fertilizantes proporciona menores perdas de nitrogênio por volatilização. Acredita-se que a associação do cloreto de potássio com a ureia seja efetiva porque existe uma troca, no complexo sortivo do solo, do cálcio pelo potássio, havendo, em seguida, formação de carbonato de cálcio e cloreto de amônio (FENN; MATOCHA e WU, 1982; SENGIK, 1993). Oliveira, Trivelin e Oliveira (2003), trabalhando com ^{15}N , concluíram que a recuperação do nitrogênio oriundo da ureia no líter do capim-marandu foi favorecida pelo parcelamento do cloreto de potássio, fato esse associado ao pH mais baixo da mistura com a ureia. Em estudo de laboratório com Neossolo, Rappaport e Axley (1984) encontraram que a adição de uma parte de cloreto de potássio para uma parte de ureia reduziu as perdas de amônia de 42 para 4,6 % ou menos, tendo sido encontrada mais baixa perda por amônia quando a ureia estava em solução com o cloreto de potássio. Em condições de campo, esses autores também encontraram efeitos benéficos da associação do cloreto de potássio com a ureia para milho (*Zea mays*) e para o capim-sudão (*Sorghum sudanense*).

Os teores de potássio no solo desempenham papel vital na manutenção do potencial produtivo e persistência das plantas forrageiras. Dessa forma, Nelson, Keisling e Rouquette (1983) concluíram que, para aumento significativo de produção de forragem do capim-bermuda (*Cynodon dactylon*), foi necessária fertilização com a dose de, no mínimo, $139 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, dos adubos com potássio (KCl ou K_2SO_4), e que dependendo do tipo do

solo pequenos incrementos de produção de forragem puderam ser observados com a aplicação de potássio no primeiro ano. No entanto, para o segundo ano e subsequentes, o potássio do solo foi exaurido pelas plantas, em parcelas onde foi aplicado o potássio. Yost et al. (2011), estudando doses de KCl de 19 a 186 kg ha⁻¹, mais controle, na produção de forragem de alfafa (*Medicago sativa*), concluíram que os teores de potássio nas parcelas que receberam a dose máxima de potássica foram superiores a 3 mmol_c kg⁻¹, enquanto no controle foi de 0,9 mmol_c kg⁻¹. Os autores relataram que os mais elevados teores de potássio no solo foram imprescindíveis para elevada produção de alfafa, uma vez que plantas crescidas em parcelas sem adubação potássica produziram significativamente menos.

Seay e Staton (2008), estudando o capim-bermuda submetido à aplicação de potássio na dose de 200 kg ha⁻¹ ano⁻¹, mais o controle e duas doses de nitrogênio de 200 e 336 kg ha⁻¹ ano⁻¹, concluíram que a fertilização potássica manteve os teores de potássio no solo na ordem de 1,6 mmol_c kg⁻¹, durante o primeiro ano de avaliação. Esses autores descreveram que nas parcelas onde foi aplicado o nitrogênio na dose de 336 kg ha⁻¹ ano⁻¹ o teor de potássio no solo foi reduzido para 0,6 mmol_c kg⁻¹, sendo a aplicação de potássio essencial para a produção elevada de forragem em presença de nitrogênio. Kering et al. (2013), estudando a produção de forragem do *Panicum virgatum* submetido à aplicação de potássio e de nitrogênio de 68 e 135 kg ha⁻¹, respectivamente, mais os controles, em solo com baixos teores de potássio nativo, concluíram que para elevar a produção de forragem seria necessário elevar os teores de potássio do solo, quando fertilizante nitrogenado foi fornecido. Enfatizaram ainda que a aplicação isolada de potássio resultou em pequeno incremento na produção de forragem de *Panicum virgatum*, sendo recomendada a aplicação conjunta desses nutrientes.

2.4 Nitrogênio em plantas forrageiras

Uma das práticas de manejo que impactam diretamente a produtividade das plantas forrageiras é a fertilização nitrogenada. De acordo com Monteiro et al. (1995), Oliveira e Corsi (2005) e Megda e Monteiro (2010) o nitrogênio é um dos nutrientes que mais limita o desempenho produtivo das plantas forrageiras, principalmente por ser um elemento constituinte de muitos compostos orgânicos, incluindo todos os aminoácidos e ácidos nucléicos (EPSTEIN; BLOOM, 2006). Além disso, o manejo inadequado de fertilizantes nitrogenados aumenta os riscos de perdas de nitrogênio no sistema solo-planta e pode impactar fortemente no balanço energético, devido à emissão de N₂O, NO e NH₃ (CANTARELLA, 2001; SIQUEIRA NETO et al., 2011).

O nitrogênio absorvido pelas plantas propicia aumento na atividade meristemática da parte aérea, promovendo incrementos na área foliar e na intensidade de perfilhamento da cultura. Além disso, esse nitrogênio é responsável por participar de várias reações nas plantas, além de fazer parte das estruturas da clorofila, de enzimas e de proteínas. Por ser elemento essencial à vida das plantas, seu balanço pode afetar positivamente ou negativamente a formação de raízes, a fotossíntese, a produção e a translocação de fotoassimilados e a taxa de crescimento de folhas e de raízes, sendo o crescimento foliar o primeiro a ser alterado (TAIZ; ZEIGER, 2009). Neste contexto, para utilizar o nitrogênio absorvido como nitrato ocorre primeiramente a redução do nitrato a nitrito pela enzima redutase do nitrato, que é responsável pela ação da redutase do nitrito com a redução até amônio, sendo esta a forma incorporada pelas plantas nos aminoácidos.

Estimativas da atividade da redutase do nitrato têm sido empregadas como uma ferramenta sensível a alterações na capacidade das plantas de assimilar nitrato e torna-se um indicador adicional para a diagnose nutricional. A enzima redutase do nitrato é ainda considerada indicadora do *status* de nitrogênio na planta, correlacionando-se com a produção de massa seca da planta, a concentração de nitrogênio no tecido foliar e com os valores SPAD (JOHNSON; WHITTINGTON e BLACKWOOD, 1976; EPSTEIN; BLOOM, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2009; LAVRES JUNIOR; SANTOS e MONTEIRO, 2010; MARSCHNER, 2012). Em vista disso, o entendimento do processo fisiológico da assimilação do nitrogênio pelas plantas e de fatores que o controlam são de suma importância, pois com esse conhecimento é possível adequar o manejo das pastagens visando aumentar a eficiência de utilização do nitrogênio e incrementar a produtividade e o valor nutritivo das pastagens.

O metabolismo de nitrogênio nas plantas é diferenciado quando amônio ou nitrato é absorvido. O processo de redução do nitrato a amônio consome muita energia da célula. Mais de 90% do nitrato que chega à folha é reduzido a amônio e para isso é usado cerca de 20% da energia luminosa captada na fotossíntese (MARSCHNER, 2012). Embora o gasto energético para assimilação do amônio seja menor, as plantas tendem a prevenir altos acúmulos de amônio em seus tecidos, visto que tal forma de nitrogênio é tóxica quando presente em altas concentrações, tanto para plantas quanto para animais (BRITTO; KRONZUCKER, 2002; EPSTEIN; BLOOM, 2006).

Nesse cenário, sabendo-se da importância da forma de nitrogênio para o metabolismo das plantas e tendo em vista o incremento da produção de forragem, é oportuna a avaliação do efeito das formas de nitrogênio em parâmetros morfológicos, produtivos, nutricionais e bioquímicos nas plantas forrageiras. Assim, Cao et al. (2011), estudando o azevém (*Lolium*

perenne), verificaram incrementos significativos na produção de massa seca da parte aérea e das raízes e na concentração de nitrogênio das plantas, mediante adubação nitrogenada nas proporções de nitrato e de amônio de 50:50 e 75:25%, respectivamente.

Silva et al. (2013), avaliando fontes e doses de nitrogênio, concluíram que a adubação nitrogenada teve efeito positivo nas características estruturais e produtivas e, consequentemente, na recuperação da pastagem de capim-marandu. Esses autores afirmaram que os maiores valores de altura de plantas, densidade de perfilhos e massa seca das lâminas foliares ocorreram na dose de nitrogênio de 300 kg ha⁻¹ ano⁻¹, aplicado como sulfato de amônio. Silveira et al. (2011), testando aplicação de nitrato de amônio em experimento com capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), em dois anos consecutivos, concluíram que as doses de nitrogênio promoveram alterações significativas no sistema radicular, em termos de massa seca, comprimento, superfície e concentração de nitrogênio. Segundo Marschner (2012), o nitrogênio é o nutriente que promove as maiores modificações no desenvolvimento e crescimento do sistema radicular e da parte aérea.

A ureia pode entrar no metabolismo das plantas diretamente pelas raízes das plantas ou derivada do catabolismo da arginina pela enzima arginase (EC 3.5.3.1), ou indiretamente, quando é convertida a amônio ou nitrato, no solo por microrganismos (WITTE, 2011). Pode ser utilizada como única fonte de nitrogênio para as plantas, mas quando as plantas supridas com nitrato e/ou amônio são comparadas com plantas supridas com ureia, estas podem apresentar sintomas de deficiência de nitrogênio (clorose branca). Os mecanismos que explicam tais eventos ainda não foram totalmente elucidados, entretanto algumas pesquisas indicaram que o acúmulo de aminoácidos, principalmente glutamina e asparagina pode interromper a absorção e distribuição de nitrogênio nas plantas, uma vez que altas concentrações desses aminoácidos indicam para as plantas que a absorção de nitrogênio pode ser reduzida (GERENDÁS; SATTELMACHER, 1997; GERENDÁS; ZHU e SATTELMACHER, 1998; MÉRIGOUT et al., 2008).

Em muitos trabalhos têm sido relatadas as respostas positivas, quanto a parâmetros produtivos e nutricionais, da adubação nitrogenada com formas, fontes e doses para gramíneas forrageiras, como os apresentados por Carvalho et al. (1991) para *Brachiaria decumbens*, por Lavres Junior e Monteiro (2003) e Lavres Junior; Santos e Monteiro (2010) para *Panicum maximum*, por Fitzpatrick e Guillard (2004) para *Poa pratensis*, e por Primavesi et al. (2005), Rodrigues et al. (2006), Costa et al. (2008a, 2008b) e Megda e Monteiro (2010) para *Brachiaria brizantha*. Também, Xia e Wan (2008), em 304 casos estudados em diversas culturas, inclusive gramíneas forrageiras, verificaram que cerca de

80% do incremento na biomassa das plantas foi devido à aplicação de fertilizantes nitrogenados.

2.5 Potássio em plantas forrageiras

O potássio é o nutriente absorvido em maior quantidade pelas plantas e a concentração desse nutriente no capim-marandu chega a exceder a de nitrogênio, principalmente em sistemas intensivos de produção de forragem (COUTINHO et al., 2004; MEGDA; MONTEIRO, 2010). Dentre as funções do potássio na planta pode-se citar: carregamento do floema, atuação no metabolismo do nitrogênio, síntese de proteínas, pressão osmótica, extensão celular, ativação enzimática, manutenção do tônus celular, manutenção do aparato fotossintético, controle da abertura e fechamento dos estômatos e síntese de poliaminas (MARSCHNER, 2012). Dessa forma, são imprescindíveis que existam adequadas concentrações de potássio nas plantas para incremento na produção de forragem com adequado valor nutritivo.

O fertilizante nitrogenado empregado na forma de nitrato ou amônio pode interferir na absorção de potássio pelas plantas e assim como o nitrato, a absorção de potássio pode ocorrer por dois sistemas. Quando os teores de potássio externos às raízes estão baixos, as plantas utilizam o sistema de alta afinidade, de absorção ativa, e quando os teores de potássio externos estão altos o sistema utilizado é o de baixa afinidade, com absorção passiva (CHEESEMAN; HANSON, 1980; KOCHIAN; LUCAS, 1988). Assim, quando as plantas absorvem potássio, o nitrato também é absorvido (LEE; RUDGE, 1986), em contraste, com o amônio, que é competitivo ao potássio na absorção pelas plantas (JARVIS, 1987; SZCZERBA et al., 2008). Os mecanismos de competição e/ou antagonismo dominantes da relação entre amônio e potássio não estão bem elucidados no solo e na planta. Sabe-se que o antagonismo entre amônio e potássio foi atribuído como simples efeito competitivo, no mesmo sítio de absorção. No entanto, evidências sugerem que o mecanismo dominante seja a inibição do tipo não competitiva, com diferentes sítios de absorção (ZHANG et al., 2010). Tem sido mostrada redução na entrada e acúmulo de potássio na planta em função do fornecimento de amônio, e ainda, que as plantas podem se beneficiar do suprimento de amônio, quando moderadas a altas doses de potássio são fornecidas (SZCZERBA et al., 2008), uma vez que ocorre redução dos efeitos tóxicos de amônio às plantas (BRITTO et al., 2001, 2002; BRITTO; KRONZUCKER, 2002).

O modo como as plantas forrageiras respondem ao suprimento de potássio depende consideravelmente da dose de nitrogênio empregada. Aumento no suprimento de nitrogênio

promove o incremento da produção de forragem, e consequentemente, a demanda mais elevada do suprimento de potássio e outros nutrientes (TAUBE; WULFES e SUDEKUM, 1995; WILKINSON; GRUDES e SUMNER, 2000; KAYSER; ISSELSTEIN, 2005; ZHANG et al., 2010). No entanto, deve-se atentar que elevadas concentrações de potássio nas plantas ou no solo podem ocasionar efeitos negativos no valor nutritivo da forragem (KEADY; O'KIELY, 1998), na interação com cálcio e magnésio no substrato (MONTEIRO; CONSOLMAGNO NETO, 2008), na absorção de amônio pelas raízes das plantas (ZHANG et al., 2010) e na redistribuição do nitrogênio nas plantas (SZCZERBA et al., 2008).

Lavres Junior e Monteiro (2003), estudando capim-mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça) submetido a combinações de doses de nitrogênio (relação 70% NO₃: 30% NH₄) e potássio, concluíram que as doses de nitrogênio e de potássio interagiram nos dois cortes desse capim para a produção da área foliar, comprimento radicular e superfície radicular, enquanto o mesmo ocorreu para o número de perfilhos na época do segundo corte. A superfície e o comprimento das raízes do capim-mombaça atingiram valores máximos com o fornecimento de doses de nitrogênio e de potássio superiores a 33 e 11 mmol L⁻¹, respectivamente. Esses autores afirmaram que o suprimento de potássio foi imprescindível para o incremento da produção de forragem, quando se forneceu nitrogênio. Ao avaliarem a influência das adubações nitrogenada e potássica em capim-setária (*Setaria anceps* cv. Kazungula), Herling, Zaneti e Gomide (1991) observaram incrementos na produção de forragem com as doses de potássio.

Rodrigues et al. (2008), cultivando capim-xaraés (*Brachiaria brizantha* cv. Xaraés) com doses de nitrogênio e de potássio, observaram 75% de incremento na produção de massa seca de folhas, entre a não aplicação de nitrogênio e a dose máxima de nitrogênio. Para as doses de potássio, foram observados 15% de incremento na produção na massa de folhas quando comparada a não aplicação de potássio com a dose máxima de potássio. Constataram ainda que o nitrogênio na dose de 176 mg dm⁻³ proporcionou aumento de produção de massa seca de folhas em presença de potássio na dose de 61 mg dm⁻³.

Consolmagno Neto, Monteiro e Dechen (2007) objetivaram obter informações quanto à relação entre os nutrientes potássio e magnésio em solução nutritiva, pela avaliação de número de perfilhos e de folhas, área foliar, concentração de clorofila e produção de forragem do capim-tanzânia (*Panicum maximum* cv. Tanzânia). Destacaram que, de forma isolada, as doses de potássio alteraram os números de perfilhos e de folhas e a área foliar em dois crescimentos dessa gramínea, enquanto influenciaram positivamente a produção de forragem no primeiro corte das plantas.

Monteiro e Consolmagno Neto (2008) observaram que, para maximização da produção de massa seca de raízes de capim-tanzânia, foram necessárias altas doses de potássio ($6,0$ a $8,8 \text{ mmol L}^{-1}$) associadas às altas doses de magnésio ($1,4$ a $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$). Quando o potássio foi suprido em baixa dose ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$), tanto o comprimento específico quanto a superfície específica das raízes foram maiores, ou seja, o diâmetro médio das raízes diminuiu com o aumento no suprimento de potássio. Segundo Fitter (1996), isto é um mecanismo da planta para aumentar a área de exploração das raízes e absorver mais nutrientes, quando submetida a estresse nutricional. A concentração de potássio nas raízes variou linearmente com as doses de potássio, indicando que a dose de potássio de $11,6 \text{ mmol L}^{-1}$ não foi suficiente para maximizar a concentração do nutriente nas raízes. Batista e Monteiro (2006) estudaram o sistema radicular do capim-marandu, em função das combinações de doses de nitrogênio e de enxofre em solução nutritiva e concluíram que as doses de nitrogênio foram determinantes no comprimento, na superfície, na produção de massa seca e na relação comprimento x massa seca do sistema radicular dessa gramínea forrageira. Os autores relataram que a concentração de nitrogênio nas raízes variou de $2,4$ a $29,5 \text{ g kg}^{-1}$ e à medida que aumentavam as doses de nitrogênio, para mesma dose de enxofre, ocorria incremento na concentração de nitrogênio.

Costa et al. (2008a), avaliando o efeito de doses de nitrogênio e de potássio na produção de massa seca e extração de macronutrientes pela fitomassa do capim-xaraés, verificaram resposta linear na produção de forragem, quando compararam os resultados do controle com as mais altas doses de nitrogênio e potássio. Em condições de baixas doses de potássio (25 mg dm^{-3}), mesmo com o aumento das doses de nitrogênio (0 a 100 mg dm^{-3}), a produção de forragem foi pouco alterada, mas a produção foi incrementada à medida que se elevaram as doses de potássio associadas às doses de nitrogênio. Mesmo não havendo efeito marcante na produção de massa seca quando se considera apenas o efeito individual da dose de nitrogênio, os resultados confirmaram a observação de Monteiro et al. (1980) e Megda e Monteiro (2010), que na utilização do adubo nitrogenado é necessário que não haja limitação no suprimento de potássio, para não prejudicar o efeito do nitrogênio no incremento da produção de forragem.

2.6 Diaminas e poliaminas

As poliaminas são encontradas em todos os seres vivos e, no caso das plantas estão envolvidas em uma série de processos metabólicos. No entanto, a exata função desses compostos nitrogenados nos processos de crescimento, desenvolvimento e resposta a estresses

abióticos não são bem compreendidos (KUSANO et al., 2007; BARON; STASOLLA, 2008). Em plantas superiores, a putrescina é sintetizada a partir da descarboxilação dos aminoácidos arginina e/ou ornitina, pelas enzimas arginina descarboxilase (ADC; EC 4.1.1.19) e ornitina descarboxilase (ODC; EC 4.1.1.17), respectivamente. A putrescina é convertida a espermidina e espermina por sucessivas transferências de um ou dois grupos aminopropil via descarboxilação do S-adenosil metionina, em processo que é mediado pela enzima S-adenosilmetionina descarboxilase (SAMDC; EC 4.1.1.50) (GALSTON, 1989; TIBURCIO; GENDY e TRANTHANH, 1989). As poliaminas ocorrem nas formas livres e/ou ligadas a compostos fenólicos, a substâncias de baixo peso molecular ou ainda a macromoléculas, como DNA, RNA, proteínas e fosfolípidos. A concentração das poliaminas pode estar relacionada às condições externas de estresse às plantas, tais como luz, temperatura, variáveis químicas e outros agentes estressantes como deficiências nutricionais, em especial de potássio, nitrogênio, magnésio e fósforo (GALSTON; KAUR-SAWHNEY, 1990; GROPPA; BENAVIDES, 2008).

A relação da presença de putrescina, espermidina e espermina com o desenvolvimento das plantas é evidente, porém não totalmente compreendida (COHEN, 1971; KUMAR et al., 1997). Têm sido observados efeitos diretos dessas substâncias no desenvolvimento das plantas, divisão celular, replicação do DNA, diferenciação celular, atraso na senescência de folhas, síntese de etileno e formação de embriões ou primórdios florais (GROPPA; BENAVIDES, 2008; KUSANO et al., 2008). As poliaminas podem servir como precursoras da síntese de ampla variedade de alcalóides e compostos fenólicos conjugados, os quais são muito difundidos nas partes florais das plantas (GUGGISBERG; HESSE, 1983) e atuar como mensageiros secundários nas células vegetais (PASCHALIDIS; ROUBELAKIS-ANGELAKIS, 2005; BARON; STASOLLA, 2008). Resultados experimentais em plantas de gergelim (*Sesamum indicum*) mostraram que as concentrações de putrescina aumentaram drasticamente em deficiência de potássio (CROCOMO; BRASIL, 1970; CROCOMO; BASSO, 1974). Basso (1987) relatou que taxas elevadas de biossíntese de poliaminas também são detectadas em cultura de células de tabaco (*Nicotiana tabacum*) em rápida proliferação, em folhas e gemas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), no tecido meristemático de batata (*Solanum tuberosum*), na extremidade de raízes de milho (*Zea mays*) e durante o desenvolvimento do tomateiro (*Solanum lycopersicon*).

Comparadas à concentração de putrescina, as concentrações de espermidina e espermina respondem com menos intensidade às condições de estresse mineral nas plantas. As pesquisas têm indicado que a biossíntese de putrescina e espermidina são essenciais para

embriogênese das plantas, e conseqüentemente, o crescimento, enquanto que a concentração de espermina no tecido vegetal não é essencial para o crescimento normal das plantas (GROPPIA; BENAVIDES, 2008; HOUDUSSE et al., 2005; HOUDUSSE et al., 2008; KUSANO et al., 2008).

Liu, Yu e Liu (2006), estudando a tolerância ao estresse salino em mutantes de plantas de cevada (*Hordeum vulgare*), observaram que plantas sensíveis à salinidade tiveram mais baixas concentrações de espermidina e espermina, enquanto que plantas tolerantes apresentaram elevadas concentrações dessas poliaminas. Esses autores concluíram que um dos mecanismos de tolerância à salinidade dessas plantas foi o efeito de maiores concentrações de poliaminas aumentando a atividade das bombas de H^+ localizadas no tonoplasto, propiciando que os sais fossem enviados para o vacúolo enquanto a célula manteve o potencial osmótico e homeostase.

Houdusse et al. (2005), estudando as concentrações de poliaminas livres associadas à aplicação de formas de nitrogênio (nitrato, amônio e amídica) em plantas de trigo (*Triticum aestivum*) e pimentão (*Capsicum annuum*), encontraram elevadas concentrações de putrescina e prolina e redução no crescimento em plantas nutridas com amônio e com ureia. Com a adição de nitrato nessas soluções (nitrato+amônio ou nitrato+ureia), as concentrações de putrescina diminuíram drasticamente e o crescimento das plantas foi normal. Quando Feng e Barker (1993) induziram plantas de tomateiro ao estresse nutricional (utilizando soluções básicas com fontes amoniacais ou nítricas com omissão dos elementos fósforo, potássio, cálcio ou magnésio) observaram que nas plantas mantidas em nutrição amoniacal ocorreu maior acúmulo de putrescina do que naquelas cultivadas em solução com predomínio de nitrato. Ocorreu também alta concentração de amônia nas células vegetais acompanhada por rápida evolução de etileno, quando se compararam as plantas nutridas com fontes amoniacais com plantas supridas com fontes nítricas e, conseqüentemente a síntese de putrescina foi aumentada pelo acúmulo de amônio nos tecidos, o que resultou em estresse nas plantas. Estes resultados corroboram a hipótese de que a biossíntese de putrescina pode ser um mecanismo metabólico de detoxificação de altas concentrações de amônio, uma vez que o acúmulo da putrescina é anterior à formação de poliaminas (BARON; STASOLLA, 2008; HOUDUSSE et al., 2008). No caso da deficiência de potássio, Houdusse et al. (2008) atribuíram a biossíntese de putrescina em plantas superiores à compensação ao desbalanço iônico causado pela acidificação do suco celular nessa condição nutricional.

Os estudos que elucidem as conseqüências do acúmulo de diaminas e poliaminas para o crescimento e desenvolvimento em gramíneas forrageiras tropicais, relacionando com a

nutrição das plantas e suas funções específicas no metabolismo dessas gramíneas, são necessários, em face de inexistência de trabalhos envolvendo gramíneas forrageiras com o acúmulo de diaminas e poliaminas e o papel modulador desses compostos nitrogenados nos atributos morfológicos, produtivos, nutricionais e bioquímicos.

Referências

- ALI, A.; TUCKER, T.C.; THOMPSON, T.L.; SALIM, M. Effects of salinity and mixed ammonium and nitrate nutrition on the growth and nitrogen utilization of barley. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Malden, v. 186, p. 223-228, 2001.
- BARON, K.; STASOLLA, C. The role of polyamines during *in vivo* and *in vitro* development. **In Vitro Cellular and Development Biology – Plant**, New York, v. 44, p. 384-395, 2008.
- BASSO, L.C. Significado fisiológico das poliaminas em plantas. In: SIMPÓSIO DE BIOTECNOLOGIA, 5., 1987. Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: CEBTEC, 1987. p. 403-421.
- 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. 125p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição Mineral de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2006.
- BATISTA, K.; MONTEIRO, F.A. Sistema radicular do capim-Marandu considerando as combinações de doses de nitrogênio e de enxofre. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 821-828, 2006.
- BOER, W.; KOWALCHUK, G.A. Nitrification in acid soils: micro-organisms and mechanisms: A Review. **Soil Biology and Biochemistry**, Madison, v. 33, p. 853-866, 2001.
- BONFIM-DA-SILVA, E.M. **Nitrogênio e enxofre na recuperação de capim Braquiária em degradação em Neossolo Quartzarênico com expressiva matéria orgânica**. 2005. 123p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição Mineral de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2005.
- BRAR, M.S.; BIJAY, S.; BANSAL, S.K.; SRINIVASARAO, C. Role of potassium nutrition in nitrogen use efficiency in cereals. **International Potash Institute – Research findings**, Madison, v. 29, p. 1-18, 2011.
- BREMNER, J.M. Total nitrogen. 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: American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, 1996. pt. 3: Chemical methods, p. 1085 - 1121.
- BREMNER, J.M.; KEENEY, D.R. Exchangeable ammonium, nitrate and nitrite by steam-distillation methods. In: BLACK, C.A. (Ed.). **Methods of soil analysis: Chemical and microbiological properties**. Madison: American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, 1965. p. 1191 - 1206.

- BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. NH_4^+ toxicity in higher plants: A critical review. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 159, p. 567–584, 2002.
- BRITTO, D.T.; SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M.; KRONZUCKER, H.J. Futile transmembrane NH_4^+ cycling: a cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Madison, v. 98, p. 4255–4258, 2001.
- BRITTO, D.T.; SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M.; KRONZUCKER, H.J. Subcellular NH_4^+ flux analysis in leaf segments of wheat (*Triticum aestivum* L.). **New Phytologist**, Lancaster, v. 155, p. 373–380, 2002.
- BURGER, M.; JACKSON, L.E. Microbial immobilization of ammonium and nitrate in relation to ammonification and nitrification rates in organic and conventional cropping systems. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 35, p. 29–36, 2003.
- CAI, Z.C.; QIN, S.W. Dynamics of crop yields and soil organic carbon in a long-term fertilization experiment in the Huang- Huai-Hai Plain of China. **Geoderma**, Amsterdam, v. 136, p. 708–715, 2006.
- CAMERON, K.C.; DI, H.J.; MOIR, J.L. Nitrogen losses from the soil/plant system: A review. **Annals of Applied Biology**, Oxford, v. 162, p. 145–173, 2013.
- CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.V.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, 2007. p. 375–470.
- CANTARELLA, H.; CORRÊA, L.A.; PRIMAVESI, A.C.; PRIMAVESI, O.; FREITAS, A.R.; SILVA, A.G. Ammonia losses by volatilization from coastcross pasture fertilized with two nitrogen sources. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19., 2001. Águas de São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: Brazilian Society of Animal Husbandry, 2001. p. 190–192.
- CAO, H.; GE, Y.; LIU, D.; CAO, Q.; CHANG, S.X.; CHANG, J.; SONG, X.; LIN, X. Nitrate/ammonium ratios affect ryegrass growth and nitrogen accumulation in a hydroponic system. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 34, p. 206–216, 2011.
- CARVALHO, M.M.; MARTINS, C.E.; VERNEQUE, R.S.; SIQUEIRA, C. Respostas de uma espécie de *Brachiaria* à fertilização com nitrogênio e potássio em um solo ácido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 15, p. 195–200, 1991.
- CHEESEMAN, J.M.; HANSON, J.B. Does active K^+ influx to root occur? **Plant Science Letters**, Clare, v. 18, p. 81–84, 1980.
- COHEN, S.S. **Introduction to the polyamines**. Englewood Cliffs: Printice-Hall, 1971. 178p.
- CONSOLMAGNO NETO, D.; MONTEIRO, F.A.; DECHEN, A.R. Características produtivas do capim-Tanzânia cultivado com combinações de potássio e de magnésio. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 29, p. 459–467, 2007.

COSTA, K.A.P.; ARAÚJO, L.A.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I.P.; FIGUEIREDO, F.C.; GOMES, K.W. Extração de macronutrientes pela fitomassa do capim-Xaraés "Xaraés" em função de doses de nitrogênio e potássio. **Ciência Rural**, Porto Alegre, v. 38, p. 1162-1166, 2008a.

COSTA, K.A.P.; FAQUIN, F.; OLIVEIRA, I.P.; ARAÚJO, J.L.; RODRIGUES, R.B. Doses e fontes de nitrogênio em pastagem de capim-Marandu. II – Nutrição nitrogenada da planta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 1601-1607, 2008b.

COUTINHO, E.L.M.; SILVA, A.R.; MONTEIRO, F.A.; RODRIGUES, L.R.A. Adubação potássica em forrageiras. In: PEDREIRA, C.G.S.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P. (Ed.) **Fertilidade do solo para pastagens produtivas**. Piracicaba, FEALQ, 2004. p. 219-277.

CROCOMO, O.J.; BASSO, L.C. Accumulation of putrescine and related amino acids in potassium deficient *Sesamum*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 13, p. 2659-2665, 1974.

CROCOMO, O.J.; BRASIL, O.G.; BASSO, L.C. Formation of N-carbamyl putrescine from citrulline in *Sesamun*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 9, p. 1487-1489, 1970.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2 ed. Londrina: Planta, 2006. 402p.

FIRESTONE M.K. Biological denitrification. In: STEVENSON, F.J. (Ed.) **Nitrogen in Agricultural Soils**. Madison: American Society of Agronomy, 1982. p. 289-326. (Agronomy Monograph, 22)

FENG, J.; BARKER, A.V. Polyamine concentration and ethylene evolution in tomato plants under nutritional stress. **HortScience**, Alexandria, v. 28, p. 109-110, 1993.

FENN, L.B.; MATOCHA, J.E.; WU, E. Substitution of ammonium and potassium for added calcium in reduction of ammonia loss from surface-applied urea. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 46, p. 771-776, 1982.

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

FERREIRA, L.G.; SANO, E.E.; FERNANDEZ, L.E.; ARAÚJO, M.F. Biophysical characteristics and fire occurrence of cultivated pastures in the Brazilian savanna observed by moderate resolution satellite data. **International Journal of Remote Sensing**, Madison, v. 34, p. 154-167, 2013.

FITTER, A. Characteristics and functions of root systems. In: WAISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. (Ed.) **Plant roots: the hidden half**. New York: Marcel Dekker, 1996. chap. 1, p. 1-20.

FITZPATRICK, R.J.M.; GUILLARD, K. *Kentucky Bluegrass* response to potassium and nitrogen fertilization. **Crop Science**, Madison, v. 44, p. 1721-1728, 2004.

GALSTON, A.W. Polyamines and plant response to stress. In: BACHRACH, U.; HEIMER, Y. (Ed.). **The physiology of polyamines**. Boca Raton: CRC Press, 1989. v. 2, cap. 7, p. 99-106.

GALSTON, A.W.; KAUR-SAWHNEY, R. Polyamines and plant cells-what's new in plant physiology. **Plant Physiology**, Rockville, v. 11, p. 5-8, 1990.

GERENDÁS, J.; SATTELMACHER, B. Significance of N source (urea vs. NH_4NO_3) and Ni supply for growth, urease activity and nitrogen metabolism of zucchini (*Cucurbita pepo* convar. giromontiina). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 196, p. 217-222, 1997.

GERENDÁS, J.; ZHU, Z.; SATTELMACHER, B. Influence of N and Ni supply on nitrogen metabolism and urease activity in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 49, p. 1545-1554, 1998.

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.

GROPPA, M.D.; BENAVIDES, M.P. Polyamines and abiotic stress: recent advances. **Amino Acids**, Amsterdam, v. 34, p. 35-45, 2008.

GUGGISBERG, A.; HESSE, M. Putrescine, spermidine, spermine and related polyamine alkaloids. **Alkaloids: Chemistry and Biology**, Zürich, v. 22, p. 85-100, 1983.

HERLING, V.R.; ZANETI, M.A.; GOMIDE, C.A. Influência de níveis de adubações nitrogenada e potássica e estádios de crescimento sobre o capim-Setária (*Setaria anceps* Stapf Ex. Massey cv. Kazungula). I - Produção de matéria seca e fisiologia de perfilhamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 20, p. 561-571, 1991.

HOUDUSSE, F.; GARNICA, M.; ZAMARREÑO, A.M.; YVIN, J.C.; GARCÍA-MINA, J.M. Possible mechanism of the nitrate action regulating free-putrescine accumulation in ammonium fed plants. **Plant Science**, Clare, v. 175, p. 731-739, 2008.

HOUDUSSE, F.; ZAMARREÑO, A.M.; GARNICA, M.; GARCÍA-MINA, J.M. The importance of nitrate in ameliorating the effects of ammonium and urea nutrition on plant development: the relationships with free polyamines and plant proline contents. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 32, p. 1057-1067, 2005.

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. The effect of low regulated supplies of nitrate and ammonium nitrogen on the growth and composition of perennial ryegrass. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 100, p. 99-112, 1987.

JOHNSON, C.B.; WHITTINGTON, W.J.; BLACKWOOD, G.C. Nitrate reductase as a possible predictive test of crop yield. **Nature**, London, v. 262, p. 133-134, 1976.

KAYSER, M.; ISSELSTEIN, J. Potassium cycling and losses in grassland systems: A review. **Grass and Forage Science**, London, v. 60, p. 213–224, 2005.

KEADY, T.W.J.; O'KIELY, P. An evaluation of potassium and nitrogen fertilisation of grassland, and date of harvest, on fermentation, effluent production, dry-matter recovery and predicted feeding value of silage. **Grass and Forage Science**, London, v. 53, p. 326–337, 1998.

KEENEY, D.R.; BREMNER, J.M. Comparison and evaluation of laboratory methods of obtaining an index of soil nitrogen availability. **Agronomy Journal**, Madison, v. 58, p. 498–503, 1966.

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, CNPQC, 1996. chap. 2, p. 16–42.

KERING, M.K.; BUTLER, T.J.; BIERMACHER, J.T.; MOSALI, J.; GURETZKY, J.A. Effect of potassium and nitrogen fertilizer on switchgrass productivity and nutrient removal rates under two harvest systems on a low potassium soil. **Bioenergy Research**, New York, v. 6, p. 329–335, 2013.

KOCHIAN, L.V.; LUCAS, W.J. Potassium transport in roots. **Advances in Botanical Research**, London, v. 15, p. 93–178, 1988.

KUMAR, A.; ALTABELLA, T.; TAYLOR, M.; TIBURCIO, A.F. Recent advances in polyamine research. **Trends in Plant Science**, London, v. 2, p. 124–130, 1997.

KUSANO, T.; BERBERICH, T.; TATEDA, C.; YAMAGUCHI, K. Polyamines: essential factors for growth and survival. **Planta**, New York, v. 228, p. 367–381, 2008.

KUSANO, T.; YAMAGUCHI, K.; BERBERICH, T.; TAKAHASHI, Y. Advances in polyamine research in 2007. **Journal of Plant Research**, Saitama, v. 120, p. 345–350, 2007.

LAVRES JUNIOR, J.; MONTEIRO, F.A. Perfilhamento, área foliar e sistema radicular do capim-Mombaça submetido a combinações de doses de nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, p. 1068–1075, 2003.

LAVRES JUNIOR, J.; SANTOS, J.D.G.; MONTEIRO, F.A. Nitrate reductase activity and SPAD readings in leaf tissues of guinea grass submitted to nitrogen and potassium rates. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, p. 801–809, 2010.

LEE, R.B.; RUDGE, K.A. Effects of nitrogen deficiency on the absorption of nitrate and ammonium by barley plants. **Annals of Botany**, London, v. 57, p. 471–486, 1986.

LI, X.; LU, J.; WU, L.; CHEN, F.; MALHI, S.S. Potassium fixation and release characteristics in rhizosphere and nonrhizosphere soils for a rapeseed-rice cropping sequence. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 41, p. 865–877, 2010.

LIU, J.; YU, B.J.; LIU, Y.L. Effects of spermidine and spermine levels on salt tolerance associated with tonoplast H^+ -ATPase and H^+ -PPase activities in barley roots. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 49, p. 119-126, 2006.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3rd ed. London: Academic Press, 2012. 651p.

MEGDA, M.M.; MONTEIRO, F.A. Nitrogen and potassium supply and the morphogenic and productive characteristics of marandu palisadegrass. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, p. 1666-1675, 2010.

MÉRIGOUT, P.; LELANDAIS, M.; BITTON, F.; RENOU, J.P.; BRIAND, X.; MEYER, C.; DANIEL-VEDELE, F. Physiological and transcriptomic aspects of urea uptake and assimilation in *Arabidopsis* plants. **Plant Physiology**, Palo Alto, v. 147, p. 1225–1238, 2008.

MONTEIRO, F.A.; CONSOLMAGNO NETO, D. Sistema radicular do capim-tanzânia adubado com potássio e magnésio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, p. 810-818, 2008.

MONTEIRO, F.A.; LIMA, S.A.A.; WERNER, J.C.; MATTOS, H.B. Adubação potássica em leguminosas e em capim-Colonião (*Panicum maximum* Jacq.) adubado com níveis de nitrogênio ou consorciado com leguminosas. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 37, p. 127-148, 1980.

MONTEIRO, F.A.; RAMOS, A.K.B.; CARVALHO, D.D.; ABREU, J.B.R.; DAIUB, J.A.S.; SILVA, J.E.P.; NATALE, W. Cultivo de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em solução nutritiva com omissões de macronutrientes. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, p. 135-141, 1995.

MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A. Diffusion methods to determine different forms of nitrogen in soil hydrolysates. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 65, p. 1284-1292, 2001.

MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A.; ELLSWORTH, T.R. Need for a soil-based approach in managing nitrogen fertilizers for profitable corn production. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 70, p. 172-182, 2001.

MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A.; HOEFT, R.G.; BROWN, H.M. A soil organic nitrogen fractions that reduces the need for nitrogen fertilization. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 65, p. 1164-1172, 2001.

NELSON, L.R.; KEISLING, T.C.; ROUQUETTE, F.M. Potassium rates and sources for coastal bermudagrass. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 47, p. 963-966, 1983.

NUNES, S.G.; BOOCK, A.; PENTEADO, M.I.O. *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. 2 ed. Campo Grande: Embrapa, CNPGC, 1985. 31p. (Embrapa. CNPGC. Documento 21).

OLIVEIRA, P.P.A.; CORSI, M. **Recuperação de pastagens degradadas para sistemas intensivos de bovinos**. São Carlos: EMBRAPA, 2005. p. 1-23. (Circular Técnica, 38).

OLIVEIRA, P.P.A.; TRIVELIN, P.C.O.; OLIVEIRA, W.S. Eficiência da fertilização nitrogenada com ureia (^{15}N) em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu associada ao parcelamento de superfosfato simples e cloreto de potássio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 613-620, 2003.

OSBORNE, G.J. Chemical fractionation of soil nitrogen in six soils from Southern New South Wales. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 15, p. 159-165, 1977.

PASCHALIDIS, K.A.; ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K.A. Sites and regulation of polyamine catabolism in the tobacco plant. Correlations with cell division/expansion, cell cycle progression, and vascular development. **American Society of Plant Biologists**, Madison, v. 138, p. 2174-2184, 2005.

PRIMAVESI, A.C.; PRIMAVESI, O.; CORRÊA, L.A.; CANTARELLA, H.; SILVA, A.G. Absorção de cátions e ânions pelo capim-Coastcross adubado com ureia e nitrato de amônio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, p. 247-253, 2005.

RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, 2011. 420p.

RAPPAPORT, B.D.; AXLEY, J.H. Potassium chloride for improved urea fertilizer efficiency. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 48, p. 399-401, 1984.

RECOUS, S.; MARY, B.; FAURIE, G. Microbial immobilization of ammonium and nitrate in cultivated soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 22, p. 913-922, 1990.

RODRIGUES, R.C.; ALVES, A.C.; BRENNECKE, K.; PLESE, L.P.M.; HERLING, V.R.; LUZ, P.H.C. Densidade populacional de perfilhos, produção de massa seca e área foliar do capim-Xaraés cultivado sob doses de nitrogênio e potássio. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 63, p. 27-33, 2006.

RODRIGUES, R.C.; MOURÃO, G.B.; BRENNECKE, K.; LUZ, P.H.C.; HERLING, V.R. Produção de massa seca, relação folha/colmo e alguns índices de crescimento do *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés cultivado com a combinação de doses de nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, p. 394-400, 2008.

RUPA, T.R.; SRIVASTAVA, S.; SWARUP, A.; SINGH, D. Potassium supplying power of a Typic Ustochrept profile using quantity/intensity technique in a long-term fertilized plot. **Journal Agricultural Science**, New York, v. 137, p. 195-203, 2001.

SANO, E.E.; ROSA, R.; BRITO, J.L.S.; FERREIRA, L.G. **Mapeamento do uso do solo e cobertura vegetal - Bioma Cerrado - Ano Base 2002**. MMA/SBF, Brasília, 2010.

SCHIMEL, D.S. Carbon and nitrogen turnover in adjacent grassland and cropland ecosystems. **Biogeochemistry**, Boston, v. 2, p. 345-357, 1986.

SHI, W.; NORTON, J.M. Microbial control of nitrate concentrations in an agricultural soil treated with dairy waste compost or ammonium fertilizer. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, p. 1453-1457, 2000.

SEAY, R.; SLATON, N.A. Bermudagrass yield response to nitrogen and potassium fertilization in northwest Arkansas. **Forage and Grazing lands**, Fayetteville, acesso on-line, doi:10.1094/FG-2008-0818-01-RS, 2008.

SENGIK, E. **Efeito de resíduos orgânicos e de sais inorgânicos na volatilização de amônia em solo tratado com ureia**. 1993. 134p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição Mineral de Plantas) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba-SP, Universidade de São Paulo, 1993.

SILVA, D.R.G.; COSTA, K.A.P.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I.P.; BERNARDES, F.B. Doses e fontes de nitrogênio na recuperação das características estruturais e produtivas do capim-marandu. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 44, p. 184-191, 2013.

SILVEIRA, C.P.; OLIVEIRA, D.A.; BONFIM-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A. Two years of nitrogen and sulfur fertilizations in a signal grass pasture under degradation: changes in the root system. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, p. 1195-1203, 2011.

SIMONSSON, M.; ANDERSSON, S.; ANDRIST-RANGEL, Y.; HILLIER, S.; MATTSSON, L.; O'BORN, I. Potassium release and fixation as a function of fertilizer application rate and soil parental material. **Geoderma**, Amsterdam, v. 140, p. 188-198, 2007.

SIQUEIRA NETO, M.; PICCOLO, M.C.; COSTA JUNIOR, C.; CERRI, C.C.; BERNOUX, M. Emissão de gases do efeito estufa em diferentes usos da terra no bioma Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, p. 63-76, 2011.

STANFORD, F.; SMITH, S.J. Nitrogen mineralization potentials of soil. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 36, p. 465-472, 1972.

SUBASINGHE, R. Effect of nitrogen and potassium stress and cultivar differences on potassium ions and nitrate uptake in sugarcane. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 29, p. 809-825, 2006.

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.

SZCZERBA, M.W.; BRITTO, D.T.; ALI, S.A.; BALKOS, K.D.; KRONZUCKER, H.J. NH_4^+ -stimulated and -inhibited components of K^+ transport in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 59, p. 3415-3423, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

TAUBE, F.; WULFES, R.; SUDEKUM, K.H. Impact of nitrogen fertilization and growing period on the concentration of mineral element during growth of permanent grass swards. **The Economic and Food**, Berlin, v. 41, p. 219-237, 1995.

TIBURCIO, A.F.; GENDY, C.A.; TRANTHANH-VAN, K. Morphogenesis in tobacco subepidermal cells: putrescine as marker of root differentiation. **Plant Cell**, Oxford, v. 19, p. 43-54, 1989.

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

WILKINSON, S.R.; GRUNES, D.L.; SUMNER, M.E. Nutrient interactions in soil and plant nutrition. In: SUMNER, M.E. (Ed.) **Handbook of Soil Science**, Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2000. p. 89–112.

WITTE, C.P. Urea metabolism in plants. **Plant Science**, Clare, v. 180, p. 431-438, 2011.

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

YADVINDER, S.; BIJAY, S.; TIMSINA, J. Crop residue management for nutrient cycling and improving soil productivity in rice-based cropping systems in the tropics. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 85, p. 269–407, 2005.

YOST, M.A.; RUSSELLEC, M.P.; COULTERA, J.A.; SHEAFFERA, C.C.; KAISERB, D.E. Potassium management during the rotation from alfalfa to corn. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 103, p. 1785-1793, 2011.

ZHANG, F.; NIU, J.; ZHANG, W.; CHEN, X.; LI, C.; YUAN, L.; XIE, J. Potassium nutrition of crops under varied regimes of nitrogen supply. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 335, p. 21-34, 2010.

3 MORFOLOGIA E PRODUÇÃO DO CAPIM-MARANDU INFLUENCIADAS PELO FORNECIMENTO DE FORMAS DE NITROGÊNIO E DOSES DE POTÁSSIO

Resumo

A forma de nitrogênio e a dose de potássio fornecida às plantas podem alterar o desenvolvimento e crescimento vegetal, com reflexos diretos na produção de massa. Objetivou-se estudar as alterações nos componentes morfológicos e produtivos da parte aérea e do sistema radicular do capim-marandu, estabelecido em um Neossolo Quartzarênico, em função do fornecimento de formas de nitrogênio combinadas com doses de potássio. Quatro formas de nitrogênio (nitrato, amônio, 70% nitrato+30% amônio e amídica), além do controle (sem nitrogênio) foram combinadas com doses de potássio (0, 150, 300 e 450 mg dm⁻³) em um esquema fatorial completo 5x4. As vinte combinações foram avaliadas em blocos inteiramente casualizados, com quatro repetições. As plantas foram coletadas duas vezes, a 42 e 73 dias após o transplante. Os resultados demonstraram que o fornecimento de nitrogênio associado ao de potássio foi importante para elevar a produção de massa seca da parte aérea e das raízes do capim-marandu. O nitrato+amônio e a ureia proporcionaram os maiores incrementos nos atributos morfológicos e produtivos do capim-marandu. A forma nitrogenada nitrato+amônio, na dose de potássio de 450 mg dm⁻³, proporcionou maior área foliar, a qual foi responsável pelo incremento da produção de forragem. O fornecimento de nitrogênio nas formas de nitrato, nitrato+amônio e amídica, associados à máxima dose de potássio proporcionaram incrementos no número de perfilhos e folhas, área foliar e, consequentemente, maior produção de massa seca da parte aérea. A aplicação na forma de amônio e o tratamento sem nitrogênio proporcionaram as mais baixas produções de massa seca da parte aérea. Doses mais elevadas de potássio reduziram os sintomas de toxicidade de amônio nas plantas de capim. Os atributos produtivos do sistema radicular foram alterados positivamente pelas formas de nitrogênio nitrato+amônio, amídica e nitrato e pelas doses de potássio.

Palavras-chave: Amônio; *Brachiaria brizantha*; Inibidores; Nitrato; Ureia

Abstract

The nitrogen form and potassium rate can change plant growth and development, with direct consequences to the biomass production. This study aimed to assess the changes on morphological and productive attributes of the shoot and root system of Marandu palisadegrass established in an Entisol, in response to nitrogen forms and potassium rates. Four forms of nitrogen (nitrate, ammonium, 70% nitrate+30% ammonium and urea) plus the control (no nitrogen) were combined with four potassium rates (0, 150, 300 and 450 mg dm⁻³), in a complete 5x4 factorial design. The twenty combinations were evaluated in a completely randomized block design with four replications. The plants were harvested twice, at 42 and 73 days after transplanting. The results showed that nitrogen supply associated with the potassium were important for increasing the shoot and root production of Marandu palisadegrass. Nitrate+ammonium and urea provided with the highest increase in morphological and productive attributes of Marandu palisadegrass. Nitrate+ammonium and potassium rate at 450 mg dm⁻³ provided with the largest leaf area, which was responsible for increasing forage production. Nitrogen supply in the form of nitrate, nitrate+ammonium and urea, associated with the maximum potassium rates provided with increased number of tillers and leaves, leaf area, and consequently higher shoot dry matter production. Ammonium application and no nitrogen resulted in the lowest shoot dry matter. High potassium rates

reduced ammonium toxicity symptoms on the grass. The productive and morphological attributes of the root system were positively changed by nitrate+ammonium, urea and nitrate and by the potassium rates.

Keywords: Ammonium; *Brachiaria brizantha*; Inhibitors; Nitrate; Urea

3.1 Introdução

O Brasil possui 210 milhões de cabeças de gado que utilizam mais de 210 milhões de hectares de pastagens (IBGE, 2006 e 2010; FERREIRA et al., 2013). Aproximadamente 55% dessas áreas são ocupadas por gramíneas do gênero *Brachiaria* (FERRAZ, 2003). A adubação e/ou reconstrução da fertilidade do solo dessas áreas faz-se necessária para aumentar a produtividade e recuperação dessas pastagens, evitando a derrubada de florestas para abertura de novas áreas produtivas. Nesse contexto, a adubação com fertilizantes nitrogenados é essencial para atender essas necessidades.

Diversos fertilizantes podem ser utilizados para o fornecimento de nitrogênio às plantas. Os fertilizantes nitrogenados variam quanto ao teor de nitrogênio total, mas diferem principalmente na forma de nitrogênio fornecida às plantas, que pode ser nitrato, amônio ou amídica. Pesquisas com outras espécies têm demonstrado alterações morfogênicas que se refletem na produção das plantas, em função da forma de nitrogênio aplicada (WANG; BELOW, 1996; WALCH-LIU et al., 2000). A ação das formas de nitrogênio no metabolismo vegetal também é fortemente influenciada pela adição de potássio na adubação (CHERNEY; KETTERINGS e ORLOSKI, 2004; FITZPATRICK; GUILLARD, 2004), o que se deve à intrincada rede de relações bioquímicas e fisiológicas que esses elementos mantêm na planta (TAIZ; ZEIGER, 2009; MARSCHNER, 2012).

Alguns autores (SNYDER; CISAR, 2000; FITZPATRICK; GUILLARD, 2004; MEGDA; MONTEIRO, 2010), estudando o fornecimento de nitrogênio e potássio na adubação, concluíram ser necessário o aumento da dose de potássio quando nitrogênio foi fornecido em mais alta dose, para se obter incrementos na produção de forragem e de raízes de gramíneas forrageiras. O crescimento e desenvolvimento vegetativo de uma gramínea são caracterizados pelo aparecimento e desenvolvimento de perfilhos, folhas, área foliar e do sistema radicular (SILSBURY, 1970). O fornecimento de potássio, associado à aplicação de nitrogênio, tem influência direta no aumento da produção das plantas forrageiras (LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2003; MEGDA; MONTEIRO, 2010; ZHANG et al., 2010), por atuar diretamente na síntese de proteínas, extensão e turgor celular, osmorregulação, fotossíntese e ativação de grande número de enzimas (MARSCHNER, 2012). A adubação combinada de

nitrogênio com potássio tem influência em emissão de perfilhos e folhas, área foliar e no sistema radicular de gramíneas forrageiras.

Dessa forma, objetivou-se estudar as alterações nos componentes morfológicos e produtivos da parte aérea e do sistema radicular do capim-marandu, estabelecido em um Neossolo Quartzarênico, em função do fornecimento de formas de nitrogênio combinadas com doses de potássio.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Local de estudo, características químicas do solo, condições de crescimento e delineamento experimental

O experimento foi realizado em Piracicaba, Estado de São Paulo em casa de vegetação situada a 22° 43' latitude Sul, 47° 38' longitude Oeste, no período de primavera/verão de 2010. Foram utilizados vasos plásticos com capacidade de 5,3 dm³ e a gramínea forrageira escolhida foi a *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. A temperatura média do ar no interior da casa de vegetação durante o período experimental esteve em torno de 33°C.

Utilizou-se um solo classificado como Neossolo Quartzarênico utilizando os métodos e critérios estabelecido pela EMBRAPA (2006) coletado a 0-20 cm de profundidade, em área de pastagem degradada. O solo foi colocado para secar ao ar durante o período de 20 dias. Após esse tempo, procedeu-se ao peneiramento em malha de 4 mm, para o descarte de cascalhos, raízes e folhas. Foram colocados em cada vaso 5880 g de solo seco e peneirado. As características químicas da amostra do solo, antes das adubações, foram: pH (CaCl₂) = 4,20; M.O. = 11,0 g kg⁻¹; P-resina e S-sulfato = 6,0 e 6,0 mg dm⁻³, respectivamente; K, Ca, Mg, H + Al, SB e CTC = 1,0; 3,0; 2,0; 16,0; 6,0 e 22,0 mmol_c dm⁻³, respectivamente; V=27,0% e m=16,5%. Realizou-se calagem com o emprego do V₂ de 50% na fórmula para cálculo da quantidade de corretivo, utilizando-se CaO e MgO, com PRNT de 83,25%. Após a mistura dos óxidos ao solo, adicionaram-se 556 mL de água em cada vaso (correspondente a 70% da capacidade máxima de retenção de água), para incubação pelo período de 30 dias.

Colocaram-se as sementes do capim para germinar em bandejas plásticas, contendo areia lavada com água corrente e água desionizada. A areia foi molhada periodicamente com água desionizada e aos 16 dias após a semeadura, quando as plântulas atingiram cerca de 4 cm de altura, realizou-se o transplante de 12 mudas para cada vaso.

Foram estudadas as combinações de formas de nitrogênio (nitrato, NA; amônio, AM; 70% nitrato: 30% amônio, NA:AM e amídica, U), além do controle (Zero N), combinadas

com as doses de potássio (150; 300 e 450 mg dm⁻³), mais o controle (Zero K). As 20 combinações no fatorial 5x4 completo foram: Zero N x Zero K; Zero N x 150 K; Zero N x 300 K; Zero N x 450 K; NA x Zero K; NA x 150 K; NA x 300 K; NA x 450 K; AM x Zero K; AM x 150 K; AM x 300 K; AM x 450 K; NA:AM x Zero K; NA:AM x 150 K; NA:AM x 300 K; NA:AM x 450 K; U x Zero K; U x 150 K; U x 300 K e U x 450 K. O delineamento experimental foi o de blocos inteiramente aleatorizados, com quatro repetições. Cultivaram-se cinco plantas do capim-marandu por vaso. O nitrogênio foi fornecido na dose de 300 mg dm⁻³, com base em trabalhos com essa espécie forrageira por Bonfim-da-Silva e Monteiro (2006), Batista e Monteiro (2008) e De Bona e Monteiro (2010). A proporção 70% de nitrato e 30% de amônio foi escolhida para compor a combinação nitrato mais amônio, com base nos resultados morfológicos e de produção de forragem obtidos por Santos (2003) com o mesmo capim.

3.2.2 Uso de inibidores, adubação com macro e micronutrientes, sistema de irrigação e avaliações dos parâmetros morfológicos e produtivos da parte aérea

As combinações com o íon amônio receberam o inibidor de nitrificação dicianodiamida (DCD), na dose de 20% da dose de nitrogênio empregada no experimento (60 mg dm⁻³), que foi aplicado via solução aquosa a cada 15 dias, visando manter o íon disponível nesta forma para as plantas. Para as combinações contendo a forma amídica (ureia) foi utilizado o inibidor da enzima urease tiofosfato de N-n-butiltriamida (NBPT), na dose de 2,5 mg de NBPT por grama de ureia, visando manter o elemento nessa forma no solo. No caso do NBPT, aplicou-se o produto via solução aquosa a cada quatro dias. Os nutrientes fósforo, cálcio, magnésio e enxofre foram fornecidos à base de 150, 360, 250 e 40 mg dm⁻³, respectivamente, antes do plantio e após primeiro corte e as fontes utilizadas foram: CaHPO₄.2H₂O; KH₂PO₄; CaCl₂.2H₂O; MgCl₂.6H₂O; MgSO₄.7H₂O; KCl; Mg(NO₃)₂.6H₂O; Ca(NO₃)₂.4H₂O e (NH₄)₂SO₄. A adubação básica referente aos macronutrientes e aos micronutrientes boro, cobre, zinco e molibdênio foi realizada antes do plantio e após o primeiro corte do capim com as seguintes quantidades dos produtos: H₃BO₃ = 1,5 mg dm⁻³; CuCl₂.2H₂O = 2,5 mg dm⁻³; ZnCl₂ = 2,0 mg dm⁻³ e Na₂MoO₄.2H₂O = 0,25 mg dm⁻³. Todos os nutrientes foram fornecidos no primeiro e segundo cortes das plantas, sendo a dose de nitrogênio e de potássio parcelados três vezes.

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 para o sistema solo-plantas conforme ocorria evapotranspiração. Dois cortes foram realizados nas plantas,

sendo o primeiro aos 42 dias após o transplante e o segundo aos 31 dias após o primeiro corte. Cortaram-se as plantas a 4 cm de altura do solo e o material vegetal foi posto para secar em estufa de ventilação forçada a 65 °C, até massa constante. O material colhido foi separado nas frações: folhas emergentes, lâminas das duas folhas recém-expandidas, lâminas das folhas maduras e colmos+bainhas, e a soma da massa seca dessas frações constituiu a produção da parte aérea. Por ocasião da colheita foram quantificados também o número de perfilhos, o número de folhas e a área foliar, sendo esta obtida com o uso de um integrador de área foliar marca LI-COR[®] modelo LI 3100.

3.2.3 Avaliação dos parâmetros morfológicos e produtivos das raízes

Na ocasião do segundo corte das plantas, após separação do solo as raízes foram lavadas, com auxílio de duas peneiras com malhas de 1,00 e 0,25 mm. Foi retirada uma sub-amostra do sistema radicular, cortando-se vertical e horizontalmente cerca de 20% de massa fresca total, de acordo com Rossiello et al. (1995). Em seguida essas sub-amostras foram colocadas em copos plásticos contendo água desionizada e corante (violeta genciana em solução aquosa, na concentração de 50 mg L⁻¹) para que as partes mais novas e claras fossem tingidas. Em seguida foram espalhadas cuidadosamente em transparências e escaneadas, obtendo-se as imagens necessárias para a utilização do aplicativo SIARCS (Sistema Integrado para Análise de Raízes e Cobertura do Solo) versão 3.0, visando as determinações de comprimento e superfície radicular. Posteriormente foi determinada a massa seca das sub-amostras, efetuando-se o cálculo do comprimento e superfície totais do sistema radicular em cada unidade experimental, em função da produção total de massa seca das raízes por meio de simples regra de três, de acordo com a metodologia descrita por Crestana et al. (1994). O comprimento e a superfície específicos foram calculados pela razão entre o comprimento ou a superfície e a massa seca das raízes.

3.2.4 Análise estatística

Todos os resultados foram analisados estatisticamente pelo emprego do pacote estatístico *Statistical Analysis System* (SAS, 2004). Primeiramente foi realizada a análise de variância e, em função da significância do teste F para a interação formas de nitrogênio x doses de potássio, foram realizados os desdobramentos para avaliar o efeito das doses de potássio (quantitativo) dentro de cada forma de nitrogênio (qualitativo), por meio de regressões polinomiais de primeiro e segundo graus. Nos casos em que a interação formas de nitrogênio x doses de potássio não foi significativa os fatores foram analisados

separadamente. Assim, os efeitos devido às formas de nitrogênio foram comparados pelo teste de Tukey. O estudo dos efeitos das doses de potássio foi realizado por meio de regressões polinomiais de primeiro e segundo graus, utilizando o comando GLM. Os parâmetros produtivos foram correlacionados pelo uso do procedimento PROC CORR. Foi utilizado o nível de significância de 1 e 5% em todos os testes estatísticos.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Número de perfilhos e de folhas e massa seca da parte aérea

As formas de nitrogênio e as doses de potássio exerceram influencia direta no número de folhas e de perfilhos e na massa seca da parte aérea, nas épocas do primeiro e segundo cortes do capim-marandu (Figura 1). O não fornecimento de nitrogênio para as plantas proporcionou os mais baixos números de folhas e de perfilhos e, conseqüentemente, de produção de massa seca da parte aérea. Ainda, para a não aplicação de nitrogênio, o incremento das doses de potássio proporcionou aumento na produção de folhas, perfilhos e massa seca da parte aérea, porém com valores menores do que quando se utilizou alguma forma de nitrogênio. Pode-se observar ainda, que quando o nitrogênio não foi fornecido, o número de folhas e de perfilhos foi maior no primeiro crescimento (Figuras 1a e 1c) das plantas do que no segundo (Figuras 1b e 1d). Esse fato pode ter sido devido aos mais elevados teores de nitrogênio presentes no solo para o primeiro crescimento (72 mg dm^{-3}) do capim, enquanto que no segundo crescimento as plantas tiveram mais baixos teores de nitrogênio (38 mg dm^{-3}) para utilizar. Associado a esse baixo teor de nitrogênio nativo do solo, proveniente da mineralização da matéria orgânica, as doses de potássio proporcionaram aumentos nos números de folhas e de perfilhos e na produção de massa seca da parte aérea, para o controle (Zero N).

Em Zero K e na dose de potássio de 150 mg dm^{-3} , as plantas de capim-marandu supridas com nitrato apresentaram mais elevado número de folhas e de perfilhos do que quando foram supridas com outras formas de nitrogênio. Com o aumento da dose de potássio para 300 e 450 mg dm^{-3} , o nitrogênio fornecido na forma de amídica proporcionou mais elevado incremento no número de folhas e de perfilhos do que para as outras formas de nitrogênio aplicadas. Dessa forma, com baixo suprimento de potássio, a forma de nitrato proporcionou os mais destacados efeitos e com o aumento da adubação com potássio a forma de nitrogênio com mais efeitos positivos foi a amídica. É possível observar ainda que a dose

de potássio de 450 mg dm⁻³ incrementou o número de folhas e de perfilhos e a produção massa seca da parte aérea, na ocasião do segundo corte, quando comparado ao primeiro.

Figura 1 - Número de folhas (a e b), número de perfilhos (c e d) e produção de massa seca da parte aérea (e, f), no primeiro (a, c, e) e segundo corte (b, d, f) do capim-marandu em função da aplicação de formas de nitrogênio e doses de potássio. As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as formas de nitrogênio, dentro de cada dose de potássio, pelo teste de Tukey (p<0,05)

O número de folhas e de perfilhos e produção de forragem, para a forma de nitrogênio como amônio, foram os mais baixos, comparados às outras formas aplicadas nas plantas de capim. A produção de forragem no primeiro corte foi mais baixa que o controle (Zero N), quando se utilizou a forma nitrogenada amônio (Figura 1e). Isto foi agravado no segundo período de crescimento (Figura 1f), onde os efeitos tóxicos do amônio nas plantas foram manifestados como clorose e posterior necrose de todas as folhas, progredindo para a morte da planta. Pode-se afirmar ainda que as doses de potássio amenizaram os efeitos tóxicos do amônio, pois plantas supridas com potássio de 150, 300 e 450 mg dm⁻³ apresentaram sintomas progressivamente menos acentuados de clorose e necrose. Tal fato refletiu-se nos atributos morfológicos e produtivos do capim, uma vez que com o aumento da dose de potássio o número de folhas e de perfilhos e até a produção de massa seca da parte aérea tiveram incremento, em relação à não aplicação de potássio, na combinação com essa forma de nitrogênio.

A combinação de nitrato+amônio com a máxima dose de potássio (450 mg dm⁻³) proporcionou a maior produção de massa seca da parte aérea, em relação às demais formas de nitrogênio, não diferindo apenas da ureia nas doses de potássio de 150 e 300 mg dm⁻³, no primeiro corte das plantas (Figura 1f). Isso demonstra que as plantas supridas com essa combinação de nitrato+amônio necessitariam de doses mais elevadas de potássio para manifestar seu potencial produtivo, principalmente após o primeiro corte, uma vez que essa combinação apresentou maior produção de massa seca da parte aérea do que todas as outras formas de nitrogênio. O fornecimento de nitrato+amônio, associado ao incremento das doses de potássio, proporcionou aumento no número de folhas e de perfilhos em cada um dos cortes das plantas.

No primeiro período de crescimento, a aplicação de ureia associada às doses de potássio de 150, 300 ou 450 mg dm⁻³ proporcionou maior incremento no número de folhas do que as outras formas. Contudo, tal fato não foi suficiente para garantir a máxima produção de massa seca da parte aérea, em que a combinação nitrato com amônio, associada às doses de potássio de 150, 300 ou 450 mg dm⁻³, proporcionou mais elevada produção de forragem do que a forma amídica, com exceção para o material coletado no primeiro corte, nas doses de potássio de 150 e 300 mg dm⁻³.

A produção de forragem é diretamente afetada pela emissão de folhas e de perfilhos, que por sua vez são dependentes da forma de nitrogênio (WANG; BELOW, 1996; WALCH-LIU et al., 2000; BAHMANI; THOM e MATTHEW, 2003) e doses de potássio aplicadas (CHERNEY; KETTERINGS e ORLOSKI, 2004; FITZPATRICK; GUILLARD, 2004;

MEGDA; MONTEIRO, 2010). No presente experimento foi observada essa variação na emissão de folhas e de perfilhos, em função da aplicação das formas de nitrogênio e das doses de potássio (Figura 1). Abreu e Monteiro (1999) verificaram maior número de perfilhos com adubação nitrogenada na proporção 75% nitrato: 25% amônio, que se refletiu em maior da produção de forragem de *Brachiaria brizantha*. Santos, Fonseca e Balbino (2009), estudando a *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, encontraram aumentos significativos no número de perfilhos e de folhas, quando a ureia foi aplicada. Esses autores concluíram que o fornecimento de ureia influenciou na composição morfológica das plantas, uma vez que o número de folhas mortas dos perfilhos vegetativos diminuiu com o incremento da dose do fertilizante nitrogenado. Provavelmente, essa redução no número de folhas mortas foi ocasionada pelo aumento da duração de vida das folhas, como também observado por Garcez Neto et al. (2002).

Cao et al. (2011), estudando o azevém (*Lolium perenne*), verificaram incrementos significativos na produção de massa seca da parte aérea com adubação nitrogenada na proporção de nitrato:amônio de 50:50. Da mesma forma, Silva et al. (2013), avaliando fontes e doses de nitrogênio, concluíram que a adubação nitrogenada alterou as características estruturais e produtivas do capim-marandu, incrementando a densidade de perfilhos e a produção de massa seca das lâminas foliares na dose de nitrogênio de 300 kg ha⁻¹ ano⁻¹ como sulfato de amônio. Kering et al. (2013), estudando a fertilização combinada de nitrogênio com potássio no capim *switchgrass* (*Panicum virgatum*), concluíram que as aplicações isoladas de nitrogênio e de potássio resultaram nas mais baixas produções de forragem do que a aplicação combinada desses nutrientes. Xia e Wan (2008), revisando 304 casos estudados em diversas culturas (inclusive gramíneas forrageiras), relataram respostas positivas quanto aos parâmetros produtivos e morfológicos, em razão da adubação nitrogenada com formas e doses.

As mais baixas produções de massa seca da parte aérea observadas neste experimento podem estar relacionadas, entre outros fatores, ao maior custo energético para a absorção do nitrato (TAIZ; ZEIGER, 2009; MARSCHNER, 2012). Tem sido estimado que a redução e assimilação do nitrato possam consumir até 25% da energia dos processos associados à fotossíntese e ao transporte de elétrons que ocorre nas mitocôndrias (BLOOM et al., 1989). No caso do amônio, esse íon pode concorrer para a redução da fotossíntese líquida (GOYAL et al., 1982), redução na absorção de alguns macronutrientes, notadamente potássio, cálcio e magnésio (MENGEL; KIRKBY, 2001), alteração nos balanços osmótico e hormonal das plantas (BRITTO; KRONZUCKER, 2002), redução do pH da solução do solo

(MARSCHNER, 2012) e aumento na resistência ao fluxo de água, que pode induzir situações de estresse hídrico (ADLER; WILCOX e MARKHART, 1996).

O fornecimento de doses de potássio amenizou os efeitos tóxicos do fornecimento exclusivo de amônio, uma vez que plantas supridas com doses mais elevadas de potássio manifestaram sintomas menos intensos de toxicidade por amônio, em relação às plantas nutridas com doses de potássio mais baixas. Szczerba et al. (2008), estudando a influência do fornecimento de amônio para plantas de arroz (*Oryza sativa*) e absorção de potássio, concluíram que quando o suprimento de potássio foi elevado, a absorção de amônio pelas plantas foi reduzida. Um dos principais fatores que influenciam a absorção de potássio pelas plantas é a forma de nitrogênio empregada na adubação, uma vez que o fornecimento de nitrato é favorável à absorção de potássio, e vice-versa, por mecanismos de co-transporte (MAATHUIS; SANDERS, 1996), e no caso do amônio o mecanismo dominante é o de competição pelo mesmo sítio de absorção (ZHANG et al., 2010). O amônio, como única forma de fornecer nitrogênio as plantas, proporcionou os menores acúmulos de massa seca da parte aérea do que a forma nítrica suprida de modo exclusiva. Mais baixas produções de massa seca, quando plantas são cultivadas apenas com nitrato ou amônio na solução de crescimento, também têm sido observados para *Zea mays* (SCHRADER et al., 1972), *Solanum lycopersicum* (GANMORE-NEUMANN; KAFKAFI, 1980), *Lolium perenne* (THORNTON; ROBINSON, 2005), arroz (SZCZERBA et al., 2008) e várias culturas (ZHANG et al., 2010), relacionando o fornecimento de potássio com nitrogênio.

O número de folhas por perfilho é uma medida que auxilia no entendimento do potencial de consumo e digestibilidade da matéria seca das plantas. No presente experimento foi observado, para o primeiro corte do capim, o número médio de quatro folhas por perfilho, independentemente da combinação de nitrogênio com potássio, o que corrobora os resultados de Megda e Monteiro (2010). Na ocasião do segundo corte da gramínea esse número variou em função das combinações estudadas e o número de folhas por perfilho, para as combinações que receberam amônio, nitrato+amônio, ureia, Zero N e Zero K foi 3; 3; 4; 2 e 2, respectivamente, o que evidencia ser necessária a aplicação de nitrogênio e de potássio para a obtenção de mais elevado número de folhas por perfilho, e conseqüentemente, elevar o potencial de consumo e digestibilidade da matéria seca das plantas. Porém, apenas o aumento no número de folhas por perfilho não foi suficiente para proporcionar a mais elevada produção de massa seca da parte aérea, a qual foi determinada principalmente pela área foliar.

O número de perfilhos e de folhas e a produção de forragem do capim-marandu tiveram resultados diferentes no primeiro e segundo cortes das plantas com valores mais elevados no

segundo corte. Megda e Monteiro (2010), estudando a combinação de doses de nitrogênio e potássio no capim-marandu, concluíram que a planta concentra grande parte da energia para o seu estabelecimento, com a formação do sistema radicular e da parte aérea, enquanto que no segundo período de crescimento (com a planta já estabelecida e com maior volume radicular) a planta pode destinar grande parte da energia para a emissão de perfilhos e de folhas e produção de forragem. Outra questão seria o fato do capim ter sido submetido à ação do corte, que promove a indução das gemas basais, por ação de hormônios, originando novos perfilhos. A forma de nitrogênio utilizada também tem grande influência no perfilhamento, por promover a quebra da dormência de gemas laterais, de modo que a emissão de perfilhos é controlada pela interação dos hormônios auxina x citocinina (ONGARO; LEYSER, 2007; DOUST, 2007). A forma de nitrogênio absorvida induz a produção desses hormônios pelas plantas, uma vez que a absorção proporcional de nitrato e do amônio faz aumentar a síntese de citocinina no tecido vegetal, e consequentemente incrementa o perfilhamento da planta. É provável que seja devido a isso, que a forma de nitrogênio nitrato+amônio proporcionou maior perfilhamento do que nos casos de fornecimento isolado de nitrato ou amônio.

As características morfogênicas e as condições ambientais são os principais fatores que modificam a área foliar que intercepta a radiação solar (LEMAIRE; CHAPMANN, 1996; SOUSA et al., 2011). Por meio dessas características obtêm-se os parâmetros estruturais da pastagem (número de folhas e de perfilhos e número de folhas por perfilho) que resultam no índice de área foliar, ou seja, a área de folhas disponível para interceptar a luz por unidade de área de solo e consequentemente o material verde que será consumido pelos animais em pastejo (LEMAIRE; CHAPMANN, 1996; CRUZ; BOVAL, 2000; MARTUSCELLO, 2009). Estudos que relacionem essas características morfogênicas com a produção de forragem, principalmente variando as formas de nitrogênio, uma vez que afetam diretamente o perfilhamento e a expansão foliar, são de suma importância para o entendimento das variáveis responsáveis pelo aumento da produção de forragem.

3.3.2 Área foliar

A interação formas de nitrogênio x doses de potássio não foi significativa para a área foliar do capim-marandu na ocasião do primeiro corte das plantas, sendo observada significância apenas para as formas de nitrogênio (Figura 2a). O fornecimento de nitrato+amônio proporcionou maior área foliar do que as outras formas de nitrogênio e esse resultado foi determinante para o incremento na produção de forragem. As plantas supridas com ureia ou nitrato tiveram áreas foliares semelhantes, e quando foi fornecido

exclusivamente o amônio para as plantas a área foliar foi inferior às obtidas com as outras formas, porém mais elevada que Zero N (Figura 2a).

Figura 2 - Área foliar do capim-marandu no primeiro (a) e segundo (b, c) cortes, em função da aplicação de formas de nitrogênio (a, b) e doses de potássio (c). As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as formas de nitrogênio (a, b) e entre as doses de potássio (c), pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

No segundo corte não houve significância para a interação formas de nitrogênio x doses de potássio para área foliar, mas foram significativos os seus efeitos isolados (Figuras 2b e 2c). As formas de nitrogênio que resultaram na mais elevada área foliar no segundo corte do capim foram nitrato+amônio e amídica, seguidas das formas nitrato, amônio e Zero N. No segundo corte verificou-se que o fornecimento exclusivo de amônio foi prejudicial às plantas, o que resultou em área foliar duas vezes menor do que no primeiro corte das plantas, e esses resultados foram semelhantes aos verificados para o controle (Zero N). Para as doses de potássio, no segundo período de crescimento, foi observado aumento linear na área foliar do capim-marandu (Figura 2c). Segundo Szczerba; Britto e Kronzucker (2009) e Marschner (2012), dentre as principais funções do potássio, a pressão osmótica que ocasiona a expansão

celular é das mais importantes para as plantas, pois principalmente dessa forma as plantas são capazes de aumentar a área de interceptação luminosa e incrementar a fotossíntese.

Uma possível explicação para maior produção de massa seca do capim-marandu suprido com nitrato+amônio seria a mais elevada expansão foliar promovida por essa forma de nitrogênio (Figuras 2a e 2b). A produção de massa seca no primeiro e segundo cortes foi determinada pelo aumento da área foliar, uma vez que os números de folhas e de perfilhos foram iguais. O aumento da área foliar do capim-marandu com o suprimento de nitrato, nitrato+amônio e ureia, bem como com doses de potássio incrementou a eficiência fotossintética da planta por incrementar a área de interceptação luminosa (AKMAL; JANSSENS, 2004). Pastos compostos por plantas com áreas foliares maiores tendem a manter maior área foliar residual após o processo de desfolhação pelo animal, o que favorece a rebrotação da pastagem (BROUGHAM, 1956). A explicação para a não significância do efeito das doses de potássio na área foliar do capim-marandu, no primeiro corte, está baseada no fato do solo fornecer parte do potássio necessário para o desenvolvimento das plantas. Entretanto, foi observada essa significância no segundo corte das plantas, em que as reservas do solo foram exauridas e a adubação passou a ser a principal entrada de potássio no sistema.

Geralmente, plantas supridas com amônio tem área foliar menor (KHAN; SILBERBUSH e LIPS, 1994; RAAB; TERRY, 1994; WALCH-LIU et al., 2000), quando comparadas com plantas supridas com nitrato. Este efeito desfavorável do amônio na expansão foliar pode ser atribuído à redução do potencial osmótico (HEUER, 1991; LEIDI et al., 1992), concomitantemente com a redução das taxas de expansão celular nas folhas (RAAB; TERRY, 1994) e da regulação hormonal entre parte aérea e raízes (WALCH-LIU et al., 2000), resultando em reduzida área foliar pelo menor acúmulo de carbono em plantas supridas com amônio. Raab e Terry (1994) e Walch-Liu et al. (2000) demonstraram que plantas supridas com amônio apresentaram células de menor tamanho, com menor número de cloroplastos por unidade de área do que plantas supridas com nitrato.

3.3.3 Produção de massa seca, comprimento e superfície radicular

Para a produção de massa seca de raízes foram constatados efeitos significativos das formas de nitrogênio e doses de potássio isoladamente (Figura 3). As maiores produções de massa seca de raízes do capim foram observadas com as formas de nitrogênio nitrato+amônio, que não diferiu da forma amídica e esta não diferiu de nitrato (Figura 3a). Verificou-se que as raízes se beneficiaram do suprimento combinado de nitrato+amônio, uma vez que o amônio e o nitrato fornecidos exclusivamente tiveram 60 e 40% menores produções de raízes,

respectivamente. O controle (Zero N) apresentou a mais baixa produção de raízes (cerca de 10% da máxima produção). Foi observado ao final do experimento que as raízes do controle (Zero N) estavam frágeis e finas, enquanto que as raízes mediante o fornecimento exclusivo de amônio estavam engrossadas e curtas.

Figura 3 – Produção de massa seca de raízes do capim-marandu em função da aplicação de formas de nitrogênio (a) e doses de potássio (b). As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as formas de nitrogênio e entre as doses de potássio, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Um dos primeiros órgãos das plantas a manifestar sintomas de toxidez de amônio é o sistema radicular, caracterizado pelo engrossamento, encurtamento e baixa emissão de raízes laterais (BRITTO; KRONZUCKER, 2002). Os mecanismos de tolerância que as plantas desenvolveram para tolerar altos teores de amônio na solução do solo são a limitada translocação para parte aérea e o armazenamento do amônio no vacúolo das células do sistema radicular. No entanto, o sistema radicular resiste até determinado limite sem prejudicar suas funções primárias como a absorção de água e nutrientes e a sustentação da planta (GOYAL; LENZ e HUFFAKER, 1982; SZCZERBA et al., 2008).

As doses de potássio influenciaram no crescimento do sistema radicular do capim-marandu (Figura 3b). A máxima produção de massa seca de raízes foi observada com a dose de potássio de 364 mg dm⁻³, que resultou em produção quase três vezes maior do que a da situação em que não foi aplicado potássio (Zero K). Considerando as respostas ao potássio, a não aplicação do nutriente (Zero K) resultou nas mais baixas produções de massa seca de raízes, mas quando o potássio foi aplicado na dose de 150 mg dm⁻³ a produção de massa seca de raízes foi incrementada em mais de duas vezes. Para as doses de 300 e 450 mg dm⁻³ de potássio observaram-se produções de massa seca de raízes semelhantes.

Megda e Monteiro (2010) também encontraram grande variação na produção de massa seca de raízes do capim-marandu, em consequência do fornecimento combinado de doses de nitrogênio com doses de potássio. Esses autores observaram que nas doses mais baixas de potássio, além da mais baixa produção de massa seca, as raízes se apresentaram quebradiças e raquíticas, desfazendo-se facilmente com as sucessivas lavagens, mostrando aspecto melado e forte odor característico de material em decomposição. Esses autores forneceram nitrogênio na forma de nitrato+amônio (relação 70:30%) e concluíram que o incremento na produção de massa seca de raízes só foi possível com aumento nas doses de potássio.

Ferrari Neto, Faquin e Vale (1994), em trabalho com gramíneas forrageiras, relataram que a fragilidade das raízes ocorreu devido à absorção e translocação do potássio para a parte aérea em intenso crescimento, porém, em quantidades insuficientes para exercer a função de transportador de fotoassimilados até o sistema radicular. Conforme esses autores, a omissão de potássio num solo com potássio trocável de $0,8 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$, resultou em menor produção de massa seca da parte aérea e, principalmente, de massa seca das raízes. Tal resposta também pôde ser observada no presente trabalho, onde o potássio trocável estava $1,0 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ no controle.

O fornecimento de formas de nitrogênio e doses de potássio alterou a partição da produção de massa seca entre parte aérea e as raízes das plantas (Figura 4). A participação de massa seca de raízes no total de produção do capim-marandu foi incrementada quando não houve aplicação de nitrogênio e de potássio. No caso do fornecimento de nitrato (Figura 4a) e da dose de potássio de 450 mg dm^{-3} (Figura 4b), a participação de massa seca da parte aérea foi incrementada.

Figura 4 – Distribuição de massa seca nas plantas de capim-marandu em função da aplicação de formas de nitrogênio (a) e doses de potássio (b). As letras indicam a diferença entre a parte aérea e as raízes dentro de cada forma de nitrogênio e doses de potássio pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

A partição da produção de massa seca entre parte aérea e as raízes pode ser entendida como uma resposta das plantas à disponibilidade de nutrientes (AGREN; FRANKLIN, 2003). Em geral, quando a disponibilidade de nutrientes aumenta, as plantas alocam menos energia e carbono para produção de raízes, mas o contrário pode ser observado no caso da escassez do nutriente no substrato (ERICSSON, 1995). Plantas supridas com amônio apresentaram sistema radicular engrossado pelo efeito tóxico do amônio às raízes, porém não foi observado efeito significativo na partição de massa seca parte aérea e de raízes. Alguns autores, estudando distribuição de massa seca parte aérea e de raízes, encontraram efeito negativo para o sistema radicular em plantas supridas com amônio (HAWKIS; LEWIS, 1993; RAAB; TERRY, 1994; GUO; BRUECK e SATTELMACHER, 2002).

Com relação ao comprimento total e ao comprimento específico das raízes do capim-marandu foi verificado efeito significativo apenas para as formas de nitrogênio (Figura 5). O comprimento radicular total foi mais elevado nas raízes das plantas supridas com nitrato+amônio e ureia, os quais foram cerca de 40 e 50% maiores do que nos casos de não aplicação de nitrogênio e de uso exclusivo de amônio, respectivamente (Figura 5a). As modificações na arquitetura do sistema radicular em função do fornecimento de nitrogênio são evidentes (CRAINE et al., 2002; ROYCEWICZ; MALAMY, 2012), em especial, quando se utilizam as formas de nitrogênio que possuem importante papel na alteração da arquitetura, e conseqüentemente dos atributos produtivos e morfológicos do sistema radicular (WALCH-LIU et al., 2006). O fornecimento de nitrato às plantas estimula a formação de raízes laterais pelo aumento no comprimento das raízes (WALCH-LIU et al., 2005), enquanto que o fornecimento exclusivo de amônio inibe o desenvolvimento lateral de raízes (WANG et al., 2000).

Para o comprimento radicular específico foi observada diferença apenas entre a não aplicação de nitrogênio (Zero N) e o emprego de nitrogênio em qualquer uma das formas de nitrato, amônio, nitrato+amônio e amídica. O comprimento radicular específico, quando se adicionou alguma forma de nitrogênio foi um terço daquele obtido quando não houve o suprimento de nitrogênio às raízes (Figura 5b). Esse resultado está de acordo com a revisão realizada por Walch-Liu et al. (2006) sobre as funções do nitrogênio na emissão de raízes laterais, em que os autores afirmaram que as taxas de crescimento radicular específicos diminuem em presença de suprimento adequado de nitrogênio. Outro mecanismo de regulação do crescimento lateral de raízes é a concentração de nitrato na parte aérea das plantas, pois mais elevadas concentrações de nitrato na parte aérea ocorrem em menor comprimento radicular específico (DREW; SAKER e ASHLEY, 1973). Esses resultados

foram comprovados no presente experimento, em que a concentração média de nitrato nas folhas diagnósticas para o controle (alto comprimento específico) e para a aplicação de formas de nitrogênio (baixo comprimento específico) foram 84 e 190 mg kg⁻¹, respectivamente. Nesse caso, existe uma relação inversa entre o comprimento específico e concentração de nitrato nas folhas diagnósticas, que pode ser vista como uma forma de se avaliar o potencial de emissão de raízes laterais em resposta à demanda de nitrogênio pelas plantas.

Figura 5 - Comprimento total (a) e específico (b) de raízes do capim-marandu, em função da aplicação de formas de nitrogênio. As barras verticais nas formas de nitrogênio indicam a diferença mínima significativa, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Foram verificados efeitos significativos das formas de nitrogênio e das doses de potássio isoladamente para a superfície total e a superfície específica radicular do capim-marandu (Figura 6). As formas de nitrogênio nitrato+amônio e amídica resultaram em mais elevada superfície radicular total da gramínea (Figura 6a). As raízes do capim desenvolvidas com nitrato+amônio tiveram 2,5 e 2,0 vezes mais superfície total radicular do que no controle (Zero N) ou sob fornecimento exclusivo de amônio. Quando o potássio foi suprido em baixas doses a superfície total foi mais elevada (Figura 6b), o que é um mecanismo da planta para aumentar a área de exploração das raízes e absorver mais nutrientes, quando submetida a estresse nutricional. A não aplicação de nitrogênio resultou em superfície radicular específica cerca de 3,0 vezes maior do que na aplicação de qualquer das formas de nitrogênio estudadas (Figura 6c). O ponto de mínima superfície radicular específica foi observado na dose de potássio de 347 mg dm⁻³ (Figura 6d). A produção de massa seca de raízes correlacionou-se significativa e positivamente com o comprimento total radicular ($r = 0,83^{**}$) e significativa e negativamente com a superfície total radicular ($r = -0,71^{**}$). A produção de massa seca de raízes correlacionou-se significativa e negativamente ($r = -0,76^{*}$ e $-0,69^{*}$) com o

comprimento e a superfície radicular específicos. O comprimento radicular total também se correlacionou positivamente com a superfície radicular total ($r = 0,69^*$).

Figura 6 - Superfície total (a, b) e específica (c, d) de raízes do capim-marandu, em função da aplicação de formas de nitrogênio e doses de potássio. As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as formas de nitrogênio e entre as doses de potássio, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Estes resultados ilustram uma típica resposta das plantas à limitação nutricional para o controle (sem aplicação de nitrogênio e potássio), onde ocorreu maior desenvolvimento radicular, com aumento da porcentagem relativa de raízes e, provavelmente, maior quantidade de raízes finas e pêlos radiculares mais longos, sendo prováveis modificações morfológicas que contribuem para aumentar a superfície e o comprimento específico e, possivelmente, a absorção de nutrientes pelo sistema radicular. As raízes do capim-marandu tiveram o desenvolvimento sensivelmente alterado pelas doses de potássio aplicadas no solo. A superfície total radicular apresentou diferença entre a não aplicação de potássio e as doses desse nutriente. Quando se analisam as doses de 300 e 450 mg dm⁻³, não se observa diferença entre essas doses de potássio e o ponto de mínimo da superfície total radicular ocorreria na dose de potássio de 452 mg dm⁻³. No caso da superfície específica radicular foram observadas

diferenças para não aplicação de potássio e a aplicação de alguma dose (150; 300 e 450 mg dm⁻³), não sendo observada diferença entre as doses de potássio. O ponto de mínima superfície radicular específica ocorreu na dose de potássio de 367 mg dm⁻³.

Plantas com mais elevado comprimento e superfície radiculares podem possuir maior contato das raízes com o solo, aumentando a eficiência na absorção de nutrientes. Os mecanismos envolvidos no crescimento do sistema radicular estão relacionados ao acúmulo de carboidratos nas raízes, enquanto a aplicação de nitrogênio e de potássio favorece esse acúmulo, incrementando tais atributos radiculares (BROUWER, 1962; ESHEL; WAISEL, 1996; MEGDA; MONTEIRO, 2010). Segundo Fitter (1996), elevados comprimento e superfície específicos ocorrem devido à presença de raízes mais finas, que significam alteração morfológica das plantas na tentativa de alcançar nutrientes em condições de carência dos mesmos no substrato. Segundo Marschner (2012), o nitrogênio altera a composição das plantas muito mais do que qualquer outro nutriente e, simultaneamente ao aumento na concentração de nitrogênio, ocorre redução drástica da quantidade de carboidratos de reserva. Em contraste com essa redução da quantidade de carboidratos, a concentração de lignina pode aumentar nas gramíneas, com prejuízos no valor nutritivo da parte aérea do capim.

Lavres Junior e Monteiro (2003) constataram que para a obtenção do máximo comprimento total das raízes as plantas de capim-mombaça necessitariam de elevadas doses de nitrogênio. Ressaltaram que o nitrogênio é o principal nutriente que pode modificar as respostas das plantas para este atributo produtivo em capins. Compararam a superfície de raízes nas mais baixas doses de nitrogênio e de potássio com as mais elevadas doses de ambos e constataram incremento de seis vezes na superfície radicular. Sullivan et al. (2000) também constataram modificações na morfologia de raízes do Kentucky *bluegrass* em função do fornecimento de nitrato às plantas. Batista e Monteiro (2006) relataram efeito benéfico do nitrogênio no incremento da superfície radicular do capim-marandu. Garcez et al. (2011), estudando a combinação de doses de nitrogênio e de magnésio para o capim-marandu, concluíram que o fornecimento desses nutrientes foi imprescindível para o incremento da produção massa seca de raízes e comprimento e superfície totais radiculares.

De modo geral, a absorção de nutrientes pelas raízes das plantas depende principalmente da sua arquitetura, caracterizada pelo comprimento e superfície de absorção. Portanto, mudanças na arquitetura do sistema radicular ocorrem em função de alterações nos teores de nutrientes na solução do solo, uma vez que são processos de adaptação das plantas para sobreviver durante períodos de severa escassez nutricional. A plasticidade da arquitetura

do sistema radicular é regulada e otimizada pela presença de nutrientes no solo (TSAY et al., 2011).

O uso dos inibidores DCD e NBPT atuantes na nitrificação e enzima urease, respectivamente, permitiram verificar os efeitos proporcionados pelo nitrogênio na forma de amônio e amídica na morfologia e produção de forragem do capim marandu. Quando o amônio foi absorvido pelas plantas foram observados os mais baixos números de perfilhos e de folhas, área foliar e, conseqüentemente, produção de forragem da parte aérea. Foram observados sintomas característicos de intoxicação por amônio nas raízes do capim, como o encurtamento e o engrossamento das raízes do capim e esses resultados estão de acordo com o relatado por Britto e Kronzucker (2002). No caso do nitrogênio absorvido na forma de amídica foram observados resultados semelhantes às formas de nitrogênio nitrato e nitrato+amônio para a emissão de perfilhos e de folhas, área foliar e produção de massa seca de parte aérea e de raízes. Dessa forma, as plantas são capazes de utilizar a ureia, como forma de nitrogênio majoritária no seu metabolismo, e obter incremento na produção de massa quando essa forma de nitrogênio é absorvida.

3.3.4 Sintomas de deficiência de nitrogênio e potássio

Na segunda semana de rebrotação do capim surgiram sintomas visuais de deficiência de nitrogênio nas plantas submetidas à não aplicação de nitrogênio. Esses sintomas se caracterizaram por desenvolvimento reduzido das plantas, poucos perfilhos e folhas e clorose nas lâminas de folhas velhas, que avançou em direção às partes novas da planta.

Os primeiros sintomas visuais de deficiência de potássio foram constatados nas plantas crescendo nas combinações em que não foi aplicado potássio. Os sintomas foram mostrados pela clorose na forma de “V” invertido nas bordas das folhas velhas, os quais avançaram em direção à nervura principal, com as plantas apresentando desenvolvimento reduzido e poucos perfilhos e folhas. No final do período experimental foi possível constatar maior desenvolvimento do sistema radicular nas plantas das combinações em que foram aplicadas uma forma de nitrogênio e dose de potássio.

Outros sintomas foram observados nas plantas supridas exclusivamente com amônio. Com o uso do inibidor de nitrificação (DCD), o nitrogênio se manteve como amônio e certamente foi absorvido nessa forma. Os sintomas de toxicidade de amônio foram clorose em lâminas de folhas velhas, progredindo para planta toda, além de redução severa no desenvolvimento das plantas, tanto na parte aérea quanto no sistema radicular. Essas

observações são similares às relatadas por Britto e Kronzucker (2002), para a toxicidade de amônio em plantas.

3.4 Conclusões

O fornecimento de nitrogênio nas formas de nitrato, nitrato+amônio e amídica, associados à máxima dose de potássio, proporcionaram incrementos nos números de perfilhos e de folhas, área foliar e, conseqüentemente, na produção de massa seca da parte aérea do capim-marandu. O não fornecimento de nitrogênio e a aplicação na forma de amônio proporcionaram as mais baixas produções de massa seca da parte aérea. Os incrementos das doses de potássio reduziram os sintomas de toxicidade de amônio nas plantas de capim. A máxima produção de massa seca de raízes ocorreu com fornecimento de nitrato+amônio e com potássio de 364 mg dm^{-3} . Os máximos comprimento e superfície totais de raízes ocorreram com a aplicação de nitrato+amônio e ureia, enquanto que comprimento e superfície específicos foram maiores nas plantas que não receberam nitrogênio. O incremento nas doses de potássio proporcionou redução nas superfícies total e específica das raízes do capim.

Referências

- ABREU, J.B.R.; MONTEIRO, F.A. Marandu grass yield and nutrition in relation to growth stages and nitrogen fertilization. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 56, p. 137-146, 1999.
- ADLER, P.R.; WILCOX, G.E.; MARKHART, A.H. Ammonium decreases muskmelon root system hydraulic conductivity. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 19, p. 1395–1403, 1996.
- AGREN, G.I.; FRANKLIN, O. Root:shoot ratios, optimization and nitrogen productivity. **Annals of Botany**, Oxford, v. 92, p. 795-800, 2003.
- 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.
- BAHMANI, I.; THOM, E.R.; MATTHEW, C. Tiller dynamics of perennial ryegrass cultivars derived from different New Zealand ecotypes: effects of cultivar, season, nitrogen fertilizer, and irrigation. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 54, p. 803-817, 2003.
- BATISTA, K.; MONTEIRO, F.A. Sistema radicular do capim-Marandu considerando as combinações de doses de nitrogênio e de enxofre. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 821-828, 2006.

_____. 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.

BLOOM, A.J.; CALDWELL, R.M.; FINAZZO, J.; WARNER, R.L.; WEISSBART, J. Oxygen and carbon dioxide fluxes from barley shoots dependent on nitrate assimilation. **Plant Physiology**, Rockville, v. 191, p. 352-356, 1989.

BONFIM-DA-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A. Nitrogênio e enxofre em características produtivas do capim-braquiária proveniente de área de pastagem em degradação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, p. 1289-1297, 2006.

BONFIM-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A.; SILVA, T.J.A. Nitrogen and sulphur on yield and water use efficiency of signalgrass from a degrading area. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 309-317, 2007.

BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 159, p. 567-584, 2002.

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

BROUWER, R. Nutritive influences on the distribution of dry matter in the plant. **Netherlands Journal of Agricultural Sciences**, Amsterdam, v. 10, p. 399-342, 1962.

CAO, H.; GE, Y.; LIU, D.; CAO, Q.; CHANG, S.X.; CHANG, J.; SONG, X.; LIN, X. Nitrate/ammonium ratios affect ryegrass growth and nitrogen accumulation in a hydroponic system. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 34, p. 206-216, 2011.

CHERNEY, J.H.; KETTERINGS, Q.M.; ORLOSKI, J.L. Plant and soil elemental status as influenced by multi-year nitrogen and potassium fertilization. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 27, p. 991-1014, 2004.

CRAINE, J.M.; WEDIN, D.A.; CHAPIN, F.S.; REICH, P.B. Relationship between the structure of root systems and resource use for 11 North American grassland plants. **Plant Ecology**, Oxford, v. 165, p. 85-100, 2002.

CRESTANA, S.; GUIMARÃES, M.F.; JORGE, L.A.C.; RALISCH, R.; TOZZI, C.L.; TORRE, A.; VAZ, C.M.P. Avaliação da distribuição de raízes no solo auxiliada por processamento de imagens digitais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 18, p. 365-371, 1994.

CRUZ, P.; BOVAL, M. Effect of nitrogen on some morphogenetic traits of temperate and tropical perennial forage grasses. In: LEMAIRE, G.; HODGSON, J.; MORAES, A. (Ed.) **Grassland ecophysiology and grazing ecology**. Wallingford: CABI Publishing, 2000. p.151-168.

DE BONA, F.D.; MONTEIRO, F.A. Marandu palisadegrass growth under nitrogen and sulphur for replacing Signal grass in degraded tropical pasture. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, p. 570-578, 2010.

DREW, M.C.; SAKER, L.R.; ASHLEY, T.W. Nutrient supply and the growth of the seminal root system in barley. I. The effect of nitrate concentration on the growth of axes and laterals. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 24, p. 1189–1202, 1973.

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

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 286p.

ERICSSON, T. Growth and shoot: root ratio of seedlings in relation to nutrient availability. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 168/169, p. 205-214, 1995.

ESHEL, A.; WAISEL, Y. Multiform and multifunction of various constituents of one root system. In: WAISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. (Ed.) **Plant roots: The hidden half**. 2nd ed New York:Marcel Dekker, 1996. p. 175-192.

FERRARI NETO, J.; FAQUIN, V.; VALE, F.R. Limitações nutricionais do colônio (*Panicum maximum* Jacq.) e da braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf.), em amostras de um Latossolo do noroeste do Paraná: I. Produção de matéria seca e perfilhamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 23, p. 538-551, 1994.

FERREIRA, L.G.; SANO, E.E.; FERNANDEZ, L.E.; ARAÚJO, M.F. Biophysical characteristics and fire occurrence of cultivated pastures in the Brazilian savanna observed by moderate resolution satellite data. **International Journal of Remote Sensing**, Madison, v. 34, p. 154-167, 2013.

FERRAZ, F.M. **Pastagens garantem o futuro da pecuária leiteira**. In: FNP Consultoria e Comércio, ed. Anualpec, 2003: anuário da pecuária brasileira. FNP, São Paulo, SP, Brazil. p. 55-56.

FITTER, A. Characteristics and functions of root systems. In: WAISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. (Ed.) **Plant roots: the hidden half**. New York: Marcel Dekker, 1996. chap. 1, p. 1 - 20.

FITZPATRICK, R.J.M.; GUILLARD, K. Kentucky bluegrass response to potassium and nitrogen fertilization. **Crop Science**, Malden, v. 44, p. 1721-1728, 2004.

GANMORE-NEUMANN, R.; KAFKAFI, U. Root temperature and percentage $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ effects on tomato development. 1. Morphology and growth. **Agronomy Journal**, Madison, v. 72, p. 758-761, 1980.

GARCEZ NETO, A.F.; NASCIMENTO, D.; REGAZZI, A.J.; FONSECA, D.M.; MOSQUIM, P.R.; GOBBI, K.F. Respostas morfogênicas e estruturais de *Panicum maximum* cv. Mombaça sob diferentes níveis de adubação nitrogenada e alturas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, p. 1890-1900, 2002.

- GARCEZ, T.B; MEGDA, M.M.; ARTUR, A.G.; MONTEIRO, F.A. Root system characteristics of Marandu palisadegrass supplied with nitrogen and magnesium rates. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, p. 1428-1435, 2011.
- GOYAL, S.S.; LENZ, O.A.; HUFFAKER, R.C. Inhibitory effects of ammoniacal nitrogen on growth radish plants. I. Chracterization of toxics of NH_4^+ on growth and its alleviation by NO_3^- . **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, v. 107, p. 125-129, 1982.
- GUO, S.; BRUECK, H.; SATTELMACHER, B. Effects of supplied nitrogen form on growth and water uptake of French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 239, p. 267–275, 2002.
- HAWKINS, H.J.; LEWIS, O.A.M. Combination effect of NaCl salinity, nitrogen form and calcium concentration on the growth, ionic content and gaseous exchange properties of *Triticum aestivum* L. cv. Gamtoos. **New Phytologist**, London, v. 124, p. 161–170, 1993.
- HEUER, B. Growth, photosynthesis and protein content in cucumber plants as affected by supplied nitrogen form. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 14, p. 363–373, 1991.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA [IBGE]. 2006. **Censo agropecuário brasileiro 2006**. IBGE, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA [IBGE]. 2010. **Pesquisa da pecuária municipal (PPM) 2010**. IBGE, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- KHAN, M.G.; SILBERBUSH, M.; LIPS, S.H. Physiological studies on salinity and nitrogen interaction in alfalfa. II. Photosynthesis and transpiration. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 17, p. 669–682, 1994.
- KERING, M.K.; BUTLER, T.J.; BIERMACHER, J.T.; MOSALI, J.; GURETZKY, J.A. Effect of potassium and nitrogen fertilizer on switchgrass productivity and nutrient removal rates under two harvest systems on a low potassium soil. **Bioenergy Research**, Madison, v. 6, p. 329-335, 2013.
- LAVRES JUNIOR, J.; MONTEIRO, F.A. Perfilhamento, área foliar e sistema radicular do capim-Mombaça submetido a combinações de doses de nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, p. 1068-1075, 2003.
- LEIDI, E.O.; SILBERBUSH, M.; SOARES, M.I.M.; LIPS, S.H. Salinity and nitrogen nutrition studies on peanut and cotton plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 15, p. 591–604, 1992.
- LEMAIRE, G.; CHAPMAN, D. Tissue flows in grazed plant communities. In: HODGSON, J.; ILLIUS, A.W. (Ed.) **The ecology and management of grazing systems**. London: CAB International, 1996. p. 3-36.
- MAATHUIS, F.J.M.; SANDERS, D. Mechanisms of potassium absorption by higher plant roots. **Physiology Plantarum**, Malden, v. 96, p. 158–68, 1996.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3rd. ed. London: Academic Press, 2012. 651p.

MARTUSCELLO, J.A.; JANK, J.; GONTIJO NETO, M.M.; LAURA, V.A.; CUNHA, D.N.F.V. Produção de gramíneas do gênero *Brachiaria* sob níveis de sombreamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, p. 1183-1190, 2009.

MEGDA, M.M.; MONTEIRO, F.A. Nitrogen and potassium supply and the morphogenetic and productive characteristics of marandu palisadegrass. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, p. 1666-1675, 2010.

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

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

RAAB, T.K.; TERRY, N. Nitrogen-source regulation of growth and photosynthesis in *Beta vulgaris* L. **Plant Physiology**, Rockville, v. 105, p. 1159–1166, 1994.

ROSSIELLO, R.O.P.; ARAÚJO, A.P.; MANZATTO, C.V.; FERNANDES, M.S. Comparação dos métodos fotoelétrico e da interseção na determinação de área, comprimento e raio médio radicular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 633-638, 1995.

ROYCEWICZ, P.; MALAMY, J.E. Dissecting the effects of nitrate, sucrose and osmotic potential on Arabidopsis root and shoot system growth in laboratory assays. **Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Science**, Shkliarevsky, v. 367, p. 1489–1500, 2012.

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

SANTOS, M.E.R.; FONSECA, D.M.; BALBINO, E.M. Capim braquiária diferido e adubado com nitrogênio: produção e características da forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, p. 650-656, 2009.

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

SILSBURY, J.H. Leaf growth in pasture grasses. **Tropical grasslands**, Saint Lucia, v. 4, p. 17-36, 1970.

SZCZERBA; M.W.; BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. K⁺ transport in plants: Physiology and molecular biology. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 166, p. 447-446, 2009.

SZCZERBA; M.W.; BRITTO, D.T.; ALI, S.A.; BALKOS, K.D.; KRONZUCKER, H.J. NH₄⁺-stimulated and -inhibited components of K⁺ transport in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 59, p. 3415–3423, 2008.

- SCHRADER, L.E.; DOMSKA, D.; JUNG, J.R.P.E.; PETTERSON, L.A. Uptake and assimilation of ammonium-N and nitrate-N and their influence on the growth of corn (*Zea mays*, L.). **Plant Physiology**, Rockville, v. 64, p. 690-695, 1972.
- SILVA, D.R.G.; COSTA, K.A.P.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I.P.; BERNARDES, F.B. Doses e fontes de nitrogênio na recuperação das características estruturais e produtivas do capim-marandu. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 44, p. 184-191, 2013.
- SNYDER, G.H.; CISAR, J.L. Nitrogen/potassium fertilization ratios for Bermuda grass turf. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 1719-1723, 2000.
- SOUSA, B.M.L.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; RODRIGUES, C.S.; MONTEIRO, H.C.F.; SILVA, S.C.; FONSECA, D.M.; SBRISSIA, A.F. Morphogenetic and structural characteristics of xaraes palisadegrass submitted to cutting heights. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, p. 53-59, 2011.
- SULLIVAN, W.M.; JIANG, Z.; HULL, R.J. Root morphology and its relationship with nitrate uptake in *Kentucky bluegrass*. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 765-772, 2000.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.
- THORNTON, B.; ROBINSON, B. Uptake and assimilation of nitrogen from solutions containing multiple N sources. **Plant, Cell and Environment**, Malden, v. 28, p. 813-821, 2005.
- TSAY, Y.F.; HO, C.H.; CHEN, H.Y.; LIN, S.H. Integration of nitrogen and potassium signaling. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 62, p. 207-226, 2011.
- WALCH-LIU, P.; IVANOV, I.I.; FILLEUR, S.; GAN, Y.; REMANS, T.; FORDE, B.G. Nitrogen regulation of root branching. **Annals of Botany**, Oxford, v. 97, p. 875-881, 2006.
- WALCH-LIU, P.; FILLEUR, S.; GAN, Y.; FORDE, B.G. Signaling mechanisms integrating root and shoot responses to changes in the nitrogen supply. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 83, p. 239-250, 2005.
- 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. Cytokinins in enhanced growth and tillering of wheat induced by mixed nitrogen source. **Crop Science**, Oxford, v. 36, p. 121-126, 1996.
- WANG, R.C.; GUEGLER, K.; LABRIE, S.T.; CRAWFORD, N.M. Genomic analysis of a nutrient response in Arabidopsis reveals diverse expression patterns and novel metabolic and potential regulatory genes induced by nitrate. **Plant Cell**, Rockville, v. 12, p. 1491-1509, 2000.
- XIA, J.; WAN, S. Global response patterns of terrestrial plant species to nitrogen addition. **New Phytologist**, London, v. 179, p. 428-439, 2008.

ZHANG, F.; NIU, J.; ZHANG, W.; CHEN, X.; LI, C.; YUAN, L.; XIE, J. Potassium nutrition of crops under varied regimes of nitrogen supply. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 335, p. 21-34, 2010.

4 FORMAS DE NITROGÊNIO E DOSES DE POTÁSSIO ALTERANDO O ESTADO NUTRICIONAL DO CAPIM-MARANDU

Resumo

O suprimento de nitrogênio e potássio altera a nutrição das plantas forrageiras, com reflexos diretos na produção de forragem e no estado nutricional das plantas. Objetivou-se avaliar as concentrações de nitrogênio, nitrato, amônio, potássio, prolina, poliaminas e clorofila, além do valor SPAD e da atividade da redutase do nitrato nas folhas diagnósticas do capim-marandu, em função da adubação com formas de nitrogênio e doses de potássio. Quatro formas de nitrogênio (nitrato, amônio, 70% nitrato+30% amônio e amídica), além do controle (sem nitrogênio) foram combinadas com quatro doses de potássio (0, 150, 300 e 450 mg dm⁻³) em fatorial 5x4. A concentração de nitrogênio total foi reduzida com o incremento das doses de potássio, enquanto que a de nitrato aumentou. A concentração de amônio foi incrementada pelas formas de nitrogênio estudadas, exceção para a aplicação de amônio. Maiores valores SPAD foram observados para as combinações com nitrato, nitrato+amônio e ureia e a aplicação de potássio de 336 mg dm⁻³ resultou em 38 unidades SPAD. A concentração de clorofila de 35 µg g⁻¹ correspondeu à de nitrogênio total de 22,5 g kg⁻¹. A atividade da enzima redutase aumentou com doses mais elevadas de potássio e com fornecimento de nitrato+amônio. O fornecimento de doses de potássio aumentou os valores de todos os parâmetros estudados, com exceção do nitrogênio total e das poliaminas. A aplicação das formas de nitrato, nitrato+amônio e amídica proporcionou aumento dos valores de todos os parâmetros nutricionais estudados, com exceção das poliaminas. As concentrações de putrescina, espermidina, espermina e prolina aumentaram mediante o fornecimento de amônio, mas diminuíram com o incremento das doses de potássio. O coeficiente de correlação entre a produção de forragem e a concentração de putrescina foi -0,91.

Palavras-chave: Amônio; Clorofila; Nitrato; Prolina; Putrescina; SPAD

Abstract

Nitrogen supply and potassium rates alter the forage plants nutrition, with direct impacts on the forage production and the nutritional status of plants. The objective of this study was to assess the nitrogen, nitrate, ammonium, potassium, proline, polyamines and chlorophyll concentration, as well as the SPAD value and the nitrate reductase activity in diagnostic leaves of Marandu palisadegrass, in response to fertilization with nitrogen forms and potassium rates. Four nitrogen forms (nitrate, ammonium, 70% nitrate+30% ammonium and urea) plus the control (no nitrogen) were combined with four potassium rates (0, 150, 300 and 450 mg dm⁻³) in a 5x4 factorial. The total nitrogen concentration was reduced with increasing potassium rates, whereas nitrate increased. The ammonium concentration was increased for all nitrogen forms studied, except for ammonium application. Higher SPAD values were observed for combinations with nitrate, nitrate+ammonium and urea, and potassium at 336 mg dm⁻³ resulted in 38 SPAD units. Chlorophyll concentration of 35 µg g⁻¹ corresponded to a total nitrogen concentration of 22.5 g kg⁻¹. The nitrate reductase activity increased with higher potassium rates and nitrate+ammonium supply. Potassium supply provided with higher concentration of all parameters studied, except total nitrogen and polyamines. Nitrate, nitrate+ammonium and urea supply significantly increased all nutritional parameters studied, with the exception of polyamines. Higher concentrations of putrescine, spermidine, spermine and proline were observed with ammonium supply, but decreased for

higher potassium rates. The correlation coefficient between forage production and the concentration of putrescine was -0.91.

Keywords: Ammonium; Chlorophyll; Nitrate; Proline; Putrescine; SPAD

4.1 Introdução

As concentrações de nitrogênio e potássio têm grande importância na nutrição vegetal e influenciam a produção de plantas forrageiras. As funções desses nutrientes nas plantas estão interligadas no metabolismo, uma vez que o nitrogênio participa da composição dos aminoácidos, da clorofila, do DNA e RNA e das poliaminas, entre outros compostos. O potássio atua na ativação de enzimas que estão ligadas ao metabolismo do nitrogênio, como síntese de proteínas e poliaminas, e participa na fotossíntese por meio da abertura e fechamento dos estômatos, entre outros processos (TAIZ; ZEIGER, 2009; MARSCHNER, 2012).

O sintoma de deficiência de nutrientes nas plantas está relacionado às desordens ou desvios ocorridos no metabolismo vegetal pela falta de nutrientes. No caso do nitrogênio, a deficiência ocasiona clorose de folhas velhas, primeiro sintoma relacionado às alterações nas clorofilas das plantas. Para o potássio, pesquisas indicam que sua falta inativa uma série de enzimas, enquanto outras enzimas (como as responsáveis pela síntese de poliaminas) são ativadas, resultando em clorose e posterior necrose de pontas e bordas, que evolui para toda a folha. Sabe-se que adequadas concentrações de potássio têm influência direta no metabolismo do nitrogênio nas plantas, alterando diretamente sua absorção, por meio da competição com íon amônio e/ou incremento na absorção de nitrato, na incorporação, por atuar na enzima redutase do nitrato (EC, 1.6.6.1) e no transporte na planta pelo carregamento do floema, juntamente com o malato (KAYSER; ISSELSTEIN, 2005). Em vista disso, a assimilação do nitrogênio pelas plantas e os fatores que a controlam, como o fornecimento de potássio, são de suma importância, pois com esse conhecimento é possível adequar o manejo da adubação nitrogenada e potássica das pastagens, visando aumentar a eficiência de utilização do nitrogênio e incrementar a produtividade e o valor nutritivo das pastagens.

Uma das alternativas para aprimorar o manejo da adubação nitrogenada é pelo uso de ferramentas que auxiliem na estimativa do estado nutricional de nitrogênio das plantas. O uso do clorofilômetro portátil pode auxiliar nessa proposta, pois proporciona leituras instantâneas e não destrutivas de folhas. Pesquisas têm mostrado que as leituras SPAD têm significativa correlação positiva com as concentrações de nitrogênio total e de clorofila e com a atividade da enzima redutase do nitrato em plantas forrageiras (LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2006;

LAVRES JUNIOR; SANTOS e MONTEIRO, 2010; YILDIRIM et al., 2011). No entanto, os resultados para gramíneas tropicais submetidas à adubação combinada de formas de nitrogênio e doses de potássio ainda são escassos na literatura.

Em plantas, as poliaminas encontradas em maior concentração são a putrescina, espermidina e a espermina (WIMALASEKERA; TEBARTZ e SCHERER, 2011). Tem sido sugerido que esses compostos nitrogenados, inclusive a prolina, desempenham importantes funções como a regulação na morfogênese, crescimento, embriogênese, desenvolvimento de órgãos das plantas, senescência de folhas e resposta a estresses bióticos e abióticos (LIU et al., 2000; ALCÁZAR et al., 2006; GROPPA; BENAVIDES, 2007; KUSANO et al., 2007). A concentração de poliaminas pode aumentar quando as plantas estão sob estresse, principalmente o nutricional. Em anos recentes, tem aumentado o número de pesquisas que tratam desses compostos nitrogenados. No entanto, com espécies de plantas forrageiras ainda são escassos estudos que mostrem a relação entre o suprimento de formas de nitrogênio e doses de potássio e o acúmulo de putrescina, espermidina, espermina e prolina, associando esse acúmulo aos atributos produtivos dessas plantas forrageiras.

Objetivou-se avaliar as concentrações de nitrogênio total, nitrato, amônio, potássio, prolina e poliaminas e o valor SPAD, a redutase do nitrato nas folhas diagnósticas do capim-marandu, além de correlacionar tanto a concentração de clorofila quanto a de putrescina com a produção de forragem, em função da adubação com formas de nitrogênio e com doses de potássio.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Local, espécie e solo

O cultivo das plantas foi realizado no período da primavera e verão de 2010, em casa de vegetação, utilizando-se vasos plásticos com capacidade de 5,3 dm³ e a gramínea forrageira *Brachiaria brizantha* Stapf. cv. Marandu. A temperatura média do ar no interior da casa de vegetação durante o período experimental esteve em torno de 33°C.

O solo utilizado foi classificado como Neossolo Quartzarênico (EMBRAPA, 2006) e foi coletado a 0-20 cm de profundidade, sendo colocado para secar ao ar durante o período de 20 dias. Após esse período, procedeu-se ao peneiramento em malha de 4 mm, para o descarte de impurezas. O solo seco e peneirado foi colocado à base de 5880 g em cada vaso de plástico. As características químicas da amostra do solo, antes das adubações, foram: pH (CaCl₂) = 4,20; M.O. = 11,0 g kg⁻¹; P-resina e S-sulfato = 6,0 e 6,0 mg dm⁻³, respectivamente;

K, Ca, Mg, H + Al, SB e CTC = 1,0; 3,0; 2,0; 16,0; 6,0 e 22,0 mmol_c dm⁻³, respectivamente, e V = 27,0 e m = 16,5%, respectivamente. A calagem foi realizada com o emprego do V₂ de 50% na fórmula para cálculo da quantidade de corretivo, utilizando-se CaO e MgO, com PRNT de 83,25%. Esses óxidos foram misturados ao solo e adicionaram-se 556 mL de água em cada vaso, buscando atingir 70% da capacidade máxima de retenção de água, para incubação por 30 dias. As sementes do capim germinaram em bandejas contendo areia lavada com água corrente e água desionizada, sendo molhadas periodicamente com água desionizada. Aos 16 dias após a semeadura 12 mudas com 4 cm foram transplantadas para cada vaso, sendo efetuados desbastes até ficarem cinco plantas por vaso.

4.2.2 Condições de crescimento, delineamento experimental e disponibilidade de nutrientes

As formas de nitrogênio nitrato (NA), amônio (AM), 70% nitrato+30% amônio (NA:AM) e amídica (U) combinadas com as doses de potássio de 150; 300 e 450 mg dm⁻³, mais os controles, sem aplicação de nitrogênio (Zero N) e sem aplicação de potássio (Zero K) foram estudadas num fatorial 5x4, em delineamento experimental em blocos inteiramente aleatorizados, com quatro repetições. O nitrogênio foi fornecido na dose de 300 mg dm⁻³, com base nos relatos de Bonfim-da-Silva e Monteiro (2006), Batista e Monteiro (2008) e De Bona e Monteiro (2010), para o capim-marandu. A proporção 70% de nitrato e 30% de amônio foi escolhida com base nos resultados morfológicos e produtivos obtidos por Santos (2003) com o capim-marandu.

Os inibidores de nitrificação (DCD) e da enzima urease (NBPT) foram utilizados nas combinações em que o íon amônio e a ureia (forma amídica) foram empregados, respectivamente. No caso do DCD reaplicou-se o produto via solução aquosa a cada 15 dias, substituindo 20% da adubação nitrogenada. Para as combinações contendo a forma amídica reaplicou-se o inibidor a cada cinco dias, na dose de 2,5 mg g⁻¹ de ureia. Os nutrientes fósforo, cálcio, magnésio e enxofre foram fornecidos à base de 150, 360, 250 e 40 mg dm⁻³, respectivamente, antes do plantio e após primeiro corte, e as fontes utilizadas foram: CaHPO₄.2H₂O; KH₂PO₄; CaCl₂.2H₂O; MgCl₂.6H₂O; MgSO₄.7H₂O; KCl; Mg(NO₃)₂.6H₂O; Ca(NO₃)₂.4H₂O e (NH₄)₂SO₄. A adubação básica referente aos macronutrientes e aos micronutrientes boro, cobre, zinco e molibdênio foi realizada antes do plantio e após primeiro corte do capim com as seguintes quantidades dos produtos: H₃BO₃ = 1,5 mg dm⁻³; CuCl₂.2H₂O = 2,5 mg dm⁻³; ZnCl₂ = 2,0 mg dm⁻³ e Na₂MoO₄.2H₂O = 0,25 mg dm⁻³.

A umidade do solo foi mantida por um sistema auto-irrigante subsuperficial, como proposto por Bonfim-Silva et al. (2007), sendo a água repostada ao solo conforme ocorria a evapotranspiração do sistema solo-planta. A parte aérea das plantas foi colhida em duas épocas: o primeiro corte aos 42 dias após o transplante e o segundo corte aos 31 dias após o primeiro. Em todas as análises foram utilizadas as duas lâminas de folhas recém-expandidas, ou seja, as folhas diagnósticas (LR) do capim-marandu no segundo período de crescimento, com a intenção de avaliar plantas com rebrotação e não aquelas em primeiro crescimento após germinação das sementes. Cortaram-se as plantas a 4 cm de altura do solo e o material vegetal foi posto para secar em estufa de ventilação forçada a 65 °C, até massa constante.

4.2.3 Concentrações de nitrogênio total, nitrato, amônio, potássio e clorofila, valor SPAD e atividade da enzima redutase do nitrato

As concentrações de nitrogênio e potássio foram determinadas, nas lâminas de duas folhas recém-expandidas, segundo metodologias descritas por Nelson e Sommers (1973) e Barnes et al. (1945), respectivamente. As concentrações de nitrogênio inorgânico (nitrato e amônio) foram determinados segundo metodologia apresentada em Tedesco et al. (1995). Para determinação do valor SPAD foi utilizado o Chlorophyll Meter SPAD-502, (MINOLTA CAMERA Co., 1989) em folhas intactas. Foram realizadas 15 leituras com o clorofilômetro no terço médio das lâminas das folhas recém-expandidas, tomando-se o cuidado de evitar as nervuras, de acordo com o relatado por Santos (1997).

Para a determinação da concentração de clorofila total foram coletadas lâminas foliares e acondicionadas em caixas térmicas com gelo seco. As amostras frescas foram colocadas em tubos de ensaio numerados, onde foram adicionados 5 mL de dimetil sulfoxido (DMSO). Os tubos de ensaio com as folhas imersas foram incubados em banho-maria à temperatura de 70°C (HISCOX; ISRAELSTAM, 1979) pelo período de 150 minutos. Após o resfriamento do extrato líquido, uma alíquota de 3 mL foi utilizada para leituras em 470, 646 e 663 nm no espectrofotômetro. A partir das leituras obtidas no espectrofotômetro foi calculada a concentração da clorofila total.

A atividade da redutase do nitrato, o valor SPAD e a concentração de clorofila total foram determinadas em material vegetal coletado no mesmo dia. Para a determinação da atividade da enzima redutase do nitrato foram colocados 200 mg de tecido verde em frascos de vidro contendo solução incubadora de KNO₃ em tampão fosfato pH 7,4. Após a incubação, foi retirado 1 mL do meio de incubação e o nitrito presente foi determinado por adição de 1 mL de ácido sulfanílico mais HCl concentrado para paralisar a reação, seguido da adição de

1 mL alfa-naftilamina para desenvolver a cor e reagir com o nitrito. A leitura foi realizada em colorímetro a 540 nm, utilizando-se o ajuste linear entre as concentrações de nitrito e leituras para cálculo da atividade da enzima redutase do nitrato (MULDER et al., 1959).

4.2.4 Concentrações de poliaminas e de prolina

As poliaminas foram extraídas, isoladas e quantificadas de acordo com o método descrito por Flores e Galston (1982), com algumas modificações, baseadas no método adaptado para tecidos vegetais por Smith et al. (1978). As LR foram maceradas em 5 mL de ácido perclórico e nitrogênio líquido, sendo em seguida centrifugadas por 10 minutos a $12100 \times g$, a 4 °C. O sobrenadante (extrato perclórico), contendo poliaminas livres, foi coletado e estocado a -86 °C.

Foram pipetados 200 μ L do extrato perclórico armazenado em tubos de ensaio, juntamente com 200 μ L de uma solução saturada de carbonato de sódio e 400 μ L de cloreto de dansil (5-[Dimetilamino]naftaleno 1-sulfonil cloreto), diluído em acetona (5 mg mL⁻¹). Em seguida, procedeu-se à agitação e os tubos foram mantidos no escuro, à temperatura ambiente por 16 horas. Após este período foram adicionados 100 μ L de solução de prolina (100 mg mL⁻¹) e as amostras foram incubadas por 30 minutos para remover o excesso de dansil. A extração das poliaminas dansiladas foi efetuada em 500 μ L de benzeno, após agitação por 30 segundos, com a coleta da fase orgânica (extrato dansilado).

Placas cromatográficas (20 x 20 cm) recobertas por silicagel 60 G - (250 μ m de espessura) foram utilizadas para a separação das poliaminas, as quais foram ativadas a 160 °C por 1,5 horas. Nessas placas foram aplicados 40 μ L do extrato dansilado. O cromatograma foi desenvolvido em cubas de vidro, utilizando-se clorofórmio:triethylamina (25:2, v/v) como fase móvel. A separação cromatográfica foi acompanhada com luz ultra-violeta (366 nm). Padrões de putrescina, espermina e espermidina (50 nmoles) foram processados paralelamente, nas mesmas condições experimentais, sendo aplicados na placa 15 μ L (1,5 nmoles) de uma mistura contendo os três padrões das aminas, com 0,5 nmol de cada uma.

As placas desenvolvidas na cromatografia foram secas e submetidas à leitura da intensidade de fluorescência, pela ativação dos compostos dansilados com a luz UV a 365 nm, sendo medida a intensidade de fluorescência das manchas a 507 nm. A interpretação e a execução dos cálculos quantitativos foram realizadas a partir dos resultados, relacionando-se com a intensidade de fluorescência dos padrões com as amostras.

A prolina foi extraída e sua concentração determinada pelo método de Bates et al. (1973). Foram pesados 0,5 g de LR frescas e maceradas com auxílio de nitrogênio líquido em

10 mL de ácido sulfossalicílico 3% e essa solução foi filtrada. Foram pipetados 2 mL do filtrado em tubo de ensaio contendo 2 mL com ácido acético e 2 mL de ninidrina, e as amostras foram fervidas por uma hora, após o que a reação foi interrompida em banho com gelo. Após esse procedimento, 4 mL de tolueno foram adicionados e as amostras agitadas em vortex por 20 segundos, e em seguida procedeu-se à leitura utilizando a absorbância de 520 nm.

4.2.5 Análise estatística

Todos os resultados foram analisados pelo pacote estatístico *Statistical Analysis System* (SAS, 2004). Primeiramente, foi realizada a análise de variância e, em função do nível de significância do teste F para a interação formas de nitrogênio x doses de potássio, foram realizados os desdobramentos para avaliar o efeito das doses de potássio (quantitativo) dentro de cada forma de nitrogênio (qualitativo), por meio de regressões polinomiais de primeiro e segundo grau. Nos casos em que a interação formas de nitrogênio x doses de potássio não foi significativa, os efeitos dos fatores foram analisados separadamente. Assim, os efeitos devido às formas de nitrogênio foram comparados pelo teste de Tukey. O estudo dos efeitos das doses de potássio foi realizado por meio de regressões polinomiais de primeiro e segundo grau, utilizando o comando GLM. Os resultados dos parâmetros produtivos foram correlacionados pelo uso do procedimento PROC CORR. Foi utilizado o nível de significância de 5% em todos os testes estatísticos.

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Concentração de nitrogênio e de potássio nas folhas diagnósticas

A interação formas de nitrogênio x doses de potássio foi significativa para as concentrações de nitrogênio total e de potássio nas LR do capim-marandu (Figura 1). De modo geral, para todas as formas de nitrogênio foi observada significativa redução na concentração de nitrogênio total quando as doses de potássio foram incrementadas. Em particular, o nitrogênio fornecido na forma de nitrato resultou em incremento de baixa magnitude na concentração de nitrogênio total com o aumento das doses de potássio a partir da dose 245 mg dm⁻³ (Figura 1a). Esses resultados indicam que quando o capim-marandu é suprido com nitrogênio, mas não recebe adubação potássica, acumula nitrogênio no tecido, mas à medida que o suprimento de potássio aumenta, a concentração de nitrogênio total

diminui, em razão do aumento da produção da massa seca da parte aérea (efeito de diluição). As LR do capim-marandu que não receberam nitrogênio (Zero N) apresentaram concentração de nitrogênio total ao redor de 9 g kg⁻¹ (Figura 1a). Seguramente, a mineralização da matéria orgânica do solo foi responsável por fornecer para as plantas os 64 mg de nitrogênio por vaso. Da mesma forma que nas combinações que receberam alguma forma de nitrogênio, no controle (Zero N) observou-se pequena queda na concentração de nitrogênio total quando o fertilizante potássico foi aplicado, indicando que as plantas se beneficiaram do fornecimento de doses de potássio, por meio do aumento na produção de massa seca da parte aérea.

Figura 1 - Concentrações de nitrogênio (a) e potássio (b) nas folhas diagnósticas (LR) do capim-marandu em função da aplicação de formas de nitrogênio e doses de potássio. As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as formas de nitrogênio, dentro de cada dose de potássio, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

O fornecimento de nitrato, amônio, nitrato+amônio e ureia resultou em diferenças na concentração de nitrogênio nas LR, quando o potássio não foi fornecido para as plantas. Com a aplicação da dose de potássio de 300 mg dm^{-3} , essa diferença não foi observada entre as formas de nitrogênio, que diferiram da não aplicação de nitrogênio. No caso da dose de potássio de 450 mg dm^{-3} , a concentração de nitrogênio total foi similar para as formas de nitrogênio amônio, nitrato+amônio e amídica, sendo que a aplicação de nitrato incrementou a concentração de nitrogênio em 21%. Isso indica que as doses de potássio influenciaram diretamente a absorção, a incorporação e a redistribuição do nitrogênio nas plantas. Esse resultado se torna mais claro quando são observados os incrementos nas concentrações de nitrogênio total das folhas diagnósticas para aplicação de nitrogênio na forma de nitrato e a redução para a forma de amônio. Alguns resultados de pesquisas têm indicado que o potássio compete com íon amônio e tem sinergismo com o nitrato, na absorção pelas raízes (LEE; RUDGE, 1986; JARVIS, 1987; SZCZERBA et al., 2008).

Outros autores mostraram que os fornecimentos de nitrogênio e potássio para as plantas, incrementaram suas concentrações no tecido e, conseqüentemente a produção de forragem (FITZPATRICK; GUILLARD, 2004; KAYSER; ISSELSTEIN, 2005; COSTA et al., 2008; LAVRES JUNIOR; SANTOS e MONTEIRO, 2010; MEGDA; MONTEIRO, 2010). Algumas pesquisas têm indicado concentração média de nitrogênio de 13 g kg^{-1} na parte aérea como adequados para gramíneas do gênero *Brachiaria*, para se obter elevada produção de forragem (INTERNATIONAL CENTER FOR TROPICAL AGRICULTURE - CIAT, 1981; WERNER et al., 1996; HÄUSLLER et al., 2006). No presente trabalho foram observadas concentrações de nitrogênio da ordem de 35, 21, 22 e 21 g kg^{-1} , para as formas de nitrogênio nitrato, amônio, nitrato+amônio e amídica, respectivamente, na dose de 450 mg dm^{-3} , para a condição de mais elevada produção de forragem. Lavres Junior e Monteiro (2006) e Batista e Monteiro (2007) encontraram as mais baixas produções de forragem, nos capins mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça) e marandu, em concentrações de nitrogênio nas LR de 14 e 16 g kg^{-1} , respectivamente. As diferenças de concentração de nitrogênio nos diversos estudos se devem, provavelmente, à parte da planta colhida, como discutido por Monteiro (2005).

A concentração de potássio nas LR do capim-marandu apresentou ajuste quadrático para as formas de nitrato, amônio e nitrato+amônio, com pontos de máxima concentração de potássio de 30, 25 e 26 g kg^{-1} de massa seca, nas doses de potássio de 340, 245 e 260 mg dm^{-3} , respectivamente. No caso da ureia, o ponto de máxima concentração de potássio seria observado em dose de potássio superior à estudada. Para a condição de Zero N foi observado

ajuste linear para a concentração de potássio nas LR, com incremento de 72% entre a condição de Zero K e a aplicação da dose de potássio de 450 mg dm^{-3} . As formas de nitrogênio e o controle (Zero N) não apresentaram diferença estatística para a concentração de potássio, quando não houve aplicação de potássio (Zero K). Para as doses de potássio de 150 e 300 mg dm^{-3} foi verificada diferença apenas no controle (Zero N) para a aplicação de qualquer das formas de nitrogênio e sem observar diferença entre elas. No caso da dose de potássio de 450 mg dm^{-3} , as plantas que receberam as formas nitrato e amídica não se diferenciaram, quanto à concentração de potássio, porém foram superiores às das plantas que receberam amônio e nitrato+amônio, que também não apresentaram diferença entre si (Figura 1b). Monteiro et al. (1995) encontraram a concentração de potássio nas LR do capim-marandu de 4,3 e 28 g kg^{-1} , quando compararam os tratamentos com omissão de potássio com o completo potássio fornecido em 6 mmol L^{-1} , respectivamente.

A manutenção de adequadas concentrações de potássio nas plantas torna-se imprescindível para elevar a produção de forragem das plantas adubadas com formas de nitrogênio (KERING et al., 2013). Costa et al. (2008), avaliando o efeito de doses de nitrogênio e potássio na produção de forragem e extração de macronutrientes pela fitomassa do capim-xaraés (*Brachiaria brizantha* cv. Xaraés), verificaram resposta linear da concentração de potássio nas plantas de capim, quando foi fornecido fertilizante nitrogenado, sendo que a aplicação combinada de doses de nitrogênio e de potássio aumentou em 30% a concentração de potássio nas plantas, com efeito marcante na produção de forragem. Em condições de baixas doses de potássio, mesmo com o aumento das doses de nitrogênio, a produção de forragem de capim-xaraés teve incremento de apenas 9%, mas à medida que se elevaram as doses de potássio associada às doses de nitrogênio, a produção de forragem de capim-xaraés aumentou cerca de 30%. Mesmo não havendo efeito marcante na produção de massa seca quando se considera apenas o efeito individual da dose de nitrogênio, os resultados confirmam os relatos de Monteiro et al. (1980) e Megda e Monteiro (2010), que na utilização do fertilizante nitrogenado é necessária manutenção de adequada concentração de potássio nas plantas, para que não haja limitação para o efeito do nitrogênio no incremento de produção de forragem.

Holzschuh et al. (2009), estudando o efeito das proporções nitrato e amônio no crescimento e na absorção de nutrientes pelo arroz (*Oryza sativa*) em solução nutritiva, concluíram que o suprimento combinado de nitrato+amônio proporcionou mais elevada produção de arroz que a aplicação isolada de cada um deles. O fornecimento de nitrato

juntamente com o amônio amenizou os efeitos tóxicos do amônio nas plantas e a absorção de potássio não foi influenciada pelo amônio como única forma de nitrogênio na solução.

4.3.2 Valor SPAD e relação clorofila x nitrogênio total

A interação formas de nitrogênio x doses de potássio não foi significativa para as leituras SPAD, mas verificou-se significância para as formas de nitrogênio e as doses de potássio isoladamente (Figura 2). A aplicação de alguma forma de nitrogênio resultou em valor SPAD superior (29 a 43 unidades SPAD) ao Zero N que apresentou 21 unidades SPAD. Os mais elevados valores SPAD foram observados para as formas nitrato, nitrato+amônio e amídica, que não apresentaram diferença estatística entre si, mas foram superiores aos das plantas que receberam amônio, e sendo este superior apenas ao controle (Zero N). Esse resultado mostra que plantas supridas apenas com amônio possivelmente apresentam desordens nos cloroplastos, que resultam em menor eficiência fotossintética do que as plantas supridas com outras formas de nitrogênio (Figura 2a).

Figura 2 - Valor SPAD nas folhas diagnósticas do capim-marandu em função da aplicação de formas de nitrogênio (a) e doses de potássio (b). As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as formas de nitrogênio (a) e doses de potássio (b), pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

As plantas cultivadas sem a aplicação de nitrogênio apresentaram sintomas visuais de deficiência de nitrogênio, com clorose e posterior necrose de folhas mais maduras, enquanto que as plantas adubadas com amônio apresentaram coloração verde mais clara do que plantas nutridas com outras formas de nitrogênio. O valor SPAD apresentou ajuste quadrático ao fornecimento de potássio, com o máximo de 38 unidades obtido com a dose de potássio de 336 mg dm⁻³ (Figura 2b). Observando-se a Figura 2b constata-se que o valor SPAD obtido nas plantas que receberam potássio de 150, 300 e 450 mg dm⁻³, não apresentaram diferença

estatística entre si, sendo essa diferença observada apenas entre a não aplicação e a aplicação de qualquer dose de potássio. A não aplicação de potássio no solo resultou em plantas de capim com baixas concentrações de potássio nas LR e, possivelmente, com aparato fotossintético menos eficiente, comparadas às plantas nutridas com doses de potássio, como observado por Wolfe, Kimbrough e Blaser (1976) para alfafa (*Medicago sativa*).

Figura 3 – Relação entre concentração de clorofila total e concentração de nitrogênio nas folhas diagnósticas (LR) do capim-marandu. Cada ponto corresponde à média verificada em cada combinação de formas de nitrogênio com doses de potássio

Alguns autores têm relatado correlação significativa entre a concentração de nitrogênio nas folhas e a concentração de clorofila no tecido foliar (SCHEPERS et al., 1992; RAJCAN; DWYER e TOLLENAAR, 1999; YILDIRIM et al., 2011; ERRECART et al., 2012). Segundo Bullock e Anderson (1998), mais clorofila é sintetizada com o aumento da disponibilidade de nitrogênio para a planta, resultando em incremento na intensidade do verde nas folhas. Porém, esse aumento na concentração de clorofila ocorre até atingir o ponto de maturidade fotossintética, que se mantém invariável, mesmo com mais incremento na concentração de nitrogênio na planta (SCHEPERS et al., 1992; COSTA et al., 2001). Patamar como esse pode ser observado na Figura 3, que relaciona a concentração de clorofila total com a concentração de nitrogênio total nas LR do capim-marandu, em que a máxima concentração de clorofila total de $35 \mu\text{g g}^{-1}$ de massa fresca de LR foi obtido quando a concentração de nitrogênio nas LR foi de $22,5 \text{ g kg}^{-1}$. Em valores mais elevados da concentração de nitrogênio nas LR a concentração de clorofila não mais aumentou. Isso explica a correlação negativa entre as concentrações de nitrogênio e as leituras SPAD com $r = -0,88^{**}$, e esse efeito negativo é atribuído às doses de potássio, uma vez que o nitrogênio

nas LR foi diluído, em função do incremento da produção de forragem com o aumento das doses de potássio.

4.3.3 Redutase do nitrato e concentrações de nitrato e amônio

A interação formas de nitrogênio x doses de potássio foi significativa para a atividade da enzima redutase do nitrato (Figura 4). As formas de nitrogênio tiveram diferença entre si apenas na dose de potássio de 450 mg dm⁻³, onde foi observado que o fornecimento de nitrato e de amônio resultou em mais baixa atividade da enzima do que as formas nitrato+amônio aplicadas isoladamente, mas não se diferenciou da forma amídica. Para as formas nitrato, nitrato+amônio e amídica a atividade da enzima redutase do nitrato apresentou ajustes lineares, indicando que possivelmente mais elevadas doses de potássio incrementariam a atividade da enzima redutase do nitrato na planta. No caso do fornecimento de amônio, a máxima atividade da enzima redutase do nitrato de 0,096 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1} \text{NO}_2^-$ foi constatada na dose de potássio de 425 mg dm⁻³. Essa mesma dose de potássio de 425 mg dm⁻³, combinada com o fornecimento de nitrato+amônio, resultou em atividade da enzima de 0,199 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1} \text{NO}_2^-$, ou seja, a atividade da enzima redutase do nitrato foi incrementada em mais de duas vezes quando o nitrato foi fornecido com amônio, em relação à verificada com o fornecimento exclusivo de amônio. Isso demonstra que a atividade da enzima redutase do nitrato foi aumentada pela adição de nitrato e potássio na adubação, como observado por Timpo e Neyra (1983) e Kawachi et al. (2002). Mengel e Kirkby (2001) e Munzarova et al. (2006) relataram que a atividade da enzima redutase do nitrato é influenciada, além da luminosidade e da temperatura, pela concentração de nitrato no substrato.

O potássio participa da ativação e da síntese da enzima redutase do nitrato (MARSCHNER, 2012). A importância da nutrição potássica e seu efeito na regulação da atividade enzimática da redutase de nitrato foram demonstrados em diversos estudos com espécies vegetais, como em mostarda (*Sinapsis alba*) por Umar e Bansal (1995), em soja (*Glycine max*) por Anuradha e Sarma (1995), em algodão (*Gossypium hirsutum*) por Song, Mao e Yang (1996) e em capim-mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça) por Lavres Junior, Santos e Monteiro (2010). Porém, faltam estudos neste sentido com outras gramíneas forrageiras tropicais.

A atividade da redutase do nitrato é a principal limitante da assimilação de nitrogênio pela planta e essa atividade é dependente da forma do nitrogênio e do contínuo transporte de nitrato pelo xilema (KAWACHI et al., 2002). A interferência das formas de nitrogênio na atividade da enzima redutase do nitrato foi demonstrada por Yang et al. (2012), que

verificaram ter o fornecimento de doses de ureia incrementado a atividade da enzima redutase do nitrato em folhas de arroz. Também, Cao et al. (2008) encontraram mais elevadas produção de biomassa e atividade da enzima redutase do nitrato quando plantas de arroz foram supridas com nitrato+amônio, do que com a aplicação isolada dessas formas de nitrogênio, assim como observado no presente experimento. Da mesma forma, Timpo e Neyra (1983) encontraram, em folhas de *Phaseolus vulgaris*, valores mais baixos de atividade da enzima redutase do nitrato em plantas supridas com amônio do que com ureia como formas exclusivas de nitrogênio.

Figura 4 - Atividade da enzima redutase do nitrato em folhas diagnósticas do capim-marandu em função da aplicação de formas de nitrogênio e doses de potássio. As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as formas de nitrogênio, dentro de cada dose de potássio, pelo teste de Tukey ($p<0,05$)

A interação formas de nitrogênio x doses de potássio foi significativa para as concentrações de nitrato e de amônio nas folhas diagnósticas do capim-marandu (Figura 5). A concentração de nitrato apresentou ajuste linear para as respostas às formas de nitrogênio nitrato e amídica, as quais não tiveram diferença estatística entre si. Para o suprimento de amônio e nitrato+amônio foram observados ajustes quadráticos, com ponto de máxima concentração de nitrato de 134 mg kg⁻¹, para a dose de potássio de 218 mg dm⁻³ e fornecimento de amônio. No caso da aplicação de nitrato+amônio, a máxima concentração de nitrato seria observada em dose de potássio mais elevada do que as estudadas (Figura 5a). No caso do nitrogênio fornecido na forma de amônio não foi verificada diferença na concentração de nitrato nas LR para o não fornecimento de nitrogênio, nas doses de potássio de 300 e 450 mg dm⁻³.

A concentração de amônio nas folhas diagnósticas do capim-marandu apresentou ajuste linear para as formas de nitrato, amônio, nitrato+amônio e amídica. O fornecimento de nitrato+amônio proporcionou mais elevada concentração de amônio nas plantas, diferenciando estatisticamente das formas nitrato, amônio e amídica. O incremento das doses de potássio proporcionou redução linear na concentração de amônio das LR e isto pode ser atribuído ao fato do potássio competir com o íon amônio na absorção pelas plantas. O incremento das doses de potássio proporcionou aumento na concentração de amônio nas plantas para as formas de nitrato, nitrato+amônio e amídica (Figura 5b).

Figura 5 - Concentrações de nitrato (a) e de amônio (b) nas folhas diagnósticas (LR) do capim-marandu em função da aplicação de formas de nitrogênio e doses de potássio. As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as formas de nitrogênio, dentro de cada dose de potássio, pelo teste de Tukey ($p<0,05$)

A combinação de nitrato+amônio com a dose de potássio de 450 mg dm^{-3} resultou nas mais elevadas produções de forragem do capim-marandu, e nessa combinação foram observadas concentrações de nitrato e de amônio ao redor de 300 mg kg^{-1} . Primavesi et al. (2005) encontraram as mais elevadas produções de forragem de capim-coastcross (*Cynodon dactylon*) em plantas com concentração de nitrato da ordem de 62 mg kg^{-1} . Esse valor está muito abaixo do limite considerado tóxico para animais, de 3400 a 4500 mg kg^{-1} (WHITEHEAD, 1995). Se ingerido em alta concentração, o nitrato é convertido a nitrito no rúmen, combinando com a hemoglobina (formando metahemoglobina) e dessa forma a hemoglobina perde a capacidade de transportar oxigênio e os animais são seriamente afetados (WRIGHT; DAVISON, 1964). Primavesi et al. (2006), em estudo com doses e fontes de nitrogênio no capim-marandu, com experimento conduzido em Latossolo Vermelho Distrófico típico, encontraram concentração de nitrato variando de 223 mg kg^{-1} para a não aplicação de nitrogênio a 709 mg kg^{-1} para a dose máxima de ureia e 1170 mg kg^{-1} para a dose máxima de nitrato de amônio.

A produção de forragem se correlacionou significativa e positivamente com valor SPAD ($r=0,91^{**}$), atividade da redutase do nitrato ($r=0,92^{**}$) e concentrações de potássio ($r=0,84^{*}$), nitrato ($r=0,92^{**}$) e de amônio nas LR ($r=0,88^{*}$), e significativa e negativamente com as concentrações de nitrogênio total ($r=-0,88^{**}$). Vários autores encontraram correlação positiva entre produção de massa seca da planta e a concentração de nitrogênio no tecido foliar e valores SPAD (JOHNSON; WHITTINGTON e BLACKWOOD, 1976; DURU, 2004; AGNUSDEI et al., 2010; LAVRES JUNIOR; SANTOS e MONTEIRO, 2010; ERRECART et al., 2012).

4.3.4 Poliaminas e prolina

A interação formas de nitrogênio x doses de potássio foi significativa para a concentração de putrescina nas LR do capim-marandu (Figura 6a). As plantas que foram supridas com amônio apresentaram as mais altas concentrações de putrescina nas LR. A não aplicação de nitrogênio no solo também resultou em altas concentrações de putrescina, com valores mais elevados do que quando foram aplicados nitrato, nitrato+amônio e ureia, mas foram mais baixos quando as plantas receberam somente amônio. No caso das aplicações de nitrato, nitrato+amônio e ureia foram observados os mais baixos valores de concentração de putrescina, sendo observada diferença entre as aplicações de nitrato+amônio ou ureia e a aplicação exclusiva de nitrato, com os mais baixos valores para essa última forma de nitrogênio, quando o potássio não foi fornecido.

Figura 6 - Concentrações de putrescina (a), espermidina (b, c) e espermina (d, e) nas LR do capim-marandu em função da aplicação de formas de nitrogênio (a, b, d) e doses de potássio (a, c, e). As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as formas de nitrogênio, dentro de cada dose de potássio (a) e entre formas de nitrogênio (b, d) e doses de potássio (c, e), pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

A aplicação de doses de potássio proporcionou redução na concentração de putrescina nas LR do capim-marandu, para todas as formas de nitrogênio estudadas, inclusive para a não aplicação de nitrogênio (Figura 6a). As mais elevadas concentrações de putrescina foram observadas na combinação amônio com a não aplicação de potássio (1359 nmol g^{-1}). Com a aplicação de dose de potássio de 450 mg kg^{-1} a concentração de putrescina foi reduzida para 586 nmol g^{-1} , concentração 57% mais baixa e alcançada apenas com o incremento da dose de potássio. Quando a forma de nitrogênio aplicada foi a nítrica, com elevado suprimento de potássio, a concentração de putrescina diminuiu mais ainda, atingindo valor 85% mais baixo do que na combinação AM x Zero K. As doses de potássio que proporcionaram as mais baixas concentrações foram 311, 450, 450, 342, 367 mg dm^{-3} , para Zero N, nitrato, amônio, nitrato+amônio e ureia, respectivamente. Quando as plantas foram submetidas à situação de estresse, pela não aplicação de nitrogênio e com a aplicação exclusiva de amônio, mais elevada dose de potássio foi requerida pelas plantas para amenizar os efeitos deletérios a que estavam sendo submetidas, seja pelo excesso de amônio ou pela falta de nitrogênio.

A aplicação de parte do nitrogênio fornecido às plantas como amônio (NA:AM) incrementou a produção de forragem e resultou em concentrações de putrescina similares às formas observadas com o emprego de nitrato e amídica. Isso mostra que as plantas com concentrações de putrescina variando entre 190 e 350 nmol g^{-1} se beneficiaram quando parte do nitrogênio foi fornecido na forma amoniacal, demonstrando que essa poliamina está presente no metabolismo normal das plantas, sendo essencial para crescimento e desenvolvimento.

A interação formas de nitrogênio x doses de potássio não foi significativa para as concentrações de espermidina e espermina nas LR do capim-marandu (Figuras 6b, 6c, 6d e 6e). As plantas que foram supridas com amônio apresentaram as mais altas concentrações de espermidina e espermina nas LR. A não aplicação de nitrogênio no solo também resultou em altas concentrações de espermidina e espermina, com valores mais elevados do que quando se aplicou nitrato ou nitrato+amônio ou ureia e mais baixos do que na aplicação exclusiva de amônio. Nos casos das aplicações de nitrato, nitrato+amônio e ureia não foram observadas diferenças entre as formas de nitrogênio, para as concentrações de espermidina e espermina (Figuras 6b e 6d). As concentrações de espermidina e espermina foram reduzidas com o incremento das doses de potássio (Figuras 6c e 6e). As doses de potássio que proporcionaram as mais baixas concentrações de espermidina e espermina foram 375 e 388 mg dm^{-3} , respectivamente.

O acúmulo de poliaminas nas plantas e seus efeitos deletérios foram evidentes quando ocorreu a nutrição exclusiva com amônio e de mais baixa extensão na não aplicação de nitrogênio para as plantas de capim-marandu. Esses efeitos foram significativamente demonstrados pela baixa produção de forragem e de raízes nessas adubações. Recentemente, Yamamoto et al. (2004) concluíram que a relação entre a nutrição das plantas com formas de nitrogênio e a síntese de poliaminas e a produção vegetal de plantas sob estresse pode depender das espécies envolvidas e, em especial, da adaptabilidade dessas espécies quanto a nutrição com amônio e a dose de nitrogênio empregada. No presente experimento foram observadas que plantas supridas com amônio apresentaram baixa produção de forragem e, conseqüentemente, mais elevada concentração de poliaminas. Isto é diferente de plantas nutridas completamente ou com pelo menos parte do nitrogênio fornecido como nitrato, em que foram observadas mais elevadas produções de forragem e baixas concentrações de putrescina.

No caso da habilidade do nitrato em amenizar os efeitos tóxicos do amônio às plantas tem sido observada diferença entre as espécies, embora o exato mecanismo dessa ação do nitrato permaneça desconhecido (BRITTO; KRONZUCKER, 2002). Alguns autores têm sugerido que esse mecanismo pode estar relacionado ao balanço hormonal nas plantas (GERENDÁS et al., 1997; CHEN et al., 1998), como efeito específico do nitrato no metabolismo das plantas, em presença de amônio (REDINBAUGH; CAMPBELL, 1993; KRONZUCKER et al., 1999; HOUDUSSE et al., 2005).

O acúmulo de poliaminas no tecido vegetal pode causar uma série de injúrias nas plantas, como a perda da permeabilidade das membranas, difusão de potássio para fora das células, perda de proteínas e necrose de tecidos (HOUDUSSE et al., 2005; WIMALASEKERA; TEBARTZ e SCHERER, 2011). De fato, as poliaminas parecem atuar nas células como metabólitos tampões relacionados principalmente com mudanças no pH do suco celular, induzidas principalmente pela nutrição com amônio. Assim, o aumento das concentrações de putrescina, espermidina, espermina e prolina, como consequência da nutrição das plantas com amônio e os efeitos do nitrato no acúmulo dessas poliaminas e o crescimento das plantas podem estar relacionados significativamente com a redução do acúmulo do amônio pelas plantas. Esta hipótese é consistente com os resultados de Redinbaugh e Campbell (1993) e Kronzucker et al. (1999), sugerindo que o nitrato favorece a assimilação do amônio pelas raízes das plantas em certas espécies e que esse efeito foi devido à indução na formação de novas rotas de assimilação de amônio por outras enzimas,

ocasionado pelo fornecimento de nitrato como parte da adubação nitrogenada, sendo essas novas rotas de assimilação não observadas em plantas nutridas exclusivamente com amônio.

A interação formas de nitrogênio x doses de potássio não foi significativa para a razão putrescina:(espermidina+espermina) [Put:(Spm+Spd)] (Figura 7). Em geral, as razões calculadas refletiram as variações observadas com o fornecimento de formas de nitrogênio e doses de potássio, em que mais elevadas razões foram observadas para a aplicação de amônio e a não aplicação de nitrogênio e potássio, resultando em significativos incrementos nas concentrações de putrescina, espermidina e espermina. Quando as formas de nitrato, nitrato+amônio e amídica e alguma dose de potássio foram fornecidas não foi observada diferença para a razão Put:(Spm+Spd).

A biossíntese de espermidina e espermina pode ser considerada um fator de proteção associado com o crescimento normal das plantas sob condições de estresse (BOUCHEREAU et al., 1999; HOUDUSSE et al., 2008), as quais refletiram em significativa redução das razões Put:(Spm+Spd) (EL-SHINTINAWY, 2000; CHATTOPADHAYAY et al., 2002). Assim, as mais baixas razões estão associadas com o crescimento normal das plantas.

Figura 7 - Razão putrescina (Put): espermidina (Spm)+espermina (Spd) em folhas diagnósticas do capim-marandu em função da aplicação de formas de nitrogênio (a) e doses de potássio (b). As barras verticais indicam a diferença mínima significativa, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Outros estudos reportaram que o fornecimento de amônio para as plantas proporcionou mais elevada razão Put:(Spm+Spd) do que em plantas nutridas com nitrato (LEIDI; SILBERBUSH e LIPS, 1991, LEIDI et al., 1992; WIMALASEKERA; TEBARTZ e SCHERER, 2011). Resultados similares foram obtidos por Speer, Brune e Kaiser (1994), Speer e Kaiser (1994) e, mais recentemente, por Frechilla et al. (2001) e por Houdesse et al. (2005) em amendoim (*Arachis hypogaea*) nutrido com amônio ou nitrato e em trigo (*Triticum*

aestivum) e pimentão (*Capsicum annuum*), respectivamente, nutridos com combinação entre amônio, nitrato e ureia.

A interação formas de nitrogênio x doses de potássio não foi significativa para a concentração de prolina nas LR do capim-marandu (Figura 8). O fornecimento de amônio proporcionou as mais altas concentrações de prolina nas LR das plantas. A não aplicação de nitrogênio no solo também resultou em alta concentração de prolina que teve valor mais elevado do que quando se aplicou nitrato, nitrato+amônio e ureia e mais baixos do que na aplicação de amônio. Na aplicação de nitrato, nitrato+amônio e ureia não foram observadas diferenças entre as formas de nitrogênio na concentração de prolina (Figura 8a). As concentrações de prolina foram reduzidas com o incremento das doses de potássio (Figura 8b). No entanto, apenas a aplicação de alguma dose de potássio se diferenciou da não aplicação de potássio, para a concentração de prolina. A dose de potássio que proporcionou a mais baixa concentração de prolina foi 401 mg dm^{-3} .

Figura 8 - Concentração de prolina em folhas diagnósticas do capim-marandu em função da aplicação de formas de nitrogênio (a) e doses de potássio (b). As barras verticais sobre as formas de nitrogênio (a) e doses de potássio (b) indicam a diferença mínima significativa, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

O mecanismo responsável pelo acúmulo de poliaminas em plantas nutridas com amônio ocorre pela rápida conversão da ornitina e agmatina a putrescina, por meio de enzimas descarboxilases (GROPPIA; BENAVIDES, 2008; HOUDUSSE et al., 2008). No entanto, o acúmulo de putrescina pode ser relacionado também à degradação da prolina, que é uma via específica associada à detoxificação de amônio pelas plantas (KEVERS et al., 1997). Essa relação entre biossíntese de putrescina e de prolina pode explicar os efeitos inibitórios do acúmulo de prolina quando poliaminas exógenas foram aplicadas em folhas de colza

(*Brassica napus*) por Larher et al. (1998), que definiram esse efeito como um *feedback* inibitório, em que a presença de poliaminas inibe a produção de prolina. O aumento da concentração de prolina e de putrescina em plantas nutridas com amônio e a mais baixa concentração dessas substâncias em plantas nutridas com fornecimento exclusivo ou como parte do nitrogênio como nitrato também foram reportados por Houdusse et al. (2005). Resultados similares para as variações nas concentrações de prolina e putrescina foram observados por Tonon et al. (2004), que consideraram essa via específica um mecanismo fisiológico das células sobreviverem ao estresse ocasionado pelo amônio.

A produção de forragem do capim-marandu correlacionou-se significativamente com a concentração de putrescina nas LR (Figura 9). Foi possível constatar que as formas de nitrogênio nitrato, nitrato+amônio e amídica nas doses de potássio de 150, 300 e 450 mg dm⁻³, apresentaram as mais elevadas produções de forragem e as mais baixas concentrações de putrescina, enquanto que para essas mesmas formas de nitrogênio, na não aplicação de potássio, observaram-se mais baixas produções de forragem com concentrações de putrescina variando entre 400 e 600 nmol g⁻¹. No caso da aplicação de nitrogênio na forma de amônio e para não aplicação de nitrogênio foram constatadas as mais baixas produções de forragem e mais elevadas concentrações de putrescina nas LR do capim-marandu. O coeficiente de correlação calculado entre a produção de forragem e a concentração de putrescina foi de -0,91**. Houdusse et al. (2005) encontraram mais elevada concentração de putrescina associada ao mais baixo crescimento de plantas de trigo e pimentão, quando os coeficientes de correlação observados foram -0,61 e -0,94, respectivamente. Esses autores acrescentaram que ainda são desconhecidos os mecanismos dos efeitos deletérios do amônio no crescimento das plantas, pelo acúmulo de putrescina.

Alguns autores têm reportado a relação da redução do crescimento de plantas não supridas com potássio, nitrogênio e magnésio, com o acúmulo de putrescina (FLORES, 1991; YAMAMOTO et al., 2004; HOUDUSSE et al., 2005 e 2008). Sung et al. (1994) demonstraram que o acúmulo de putrescina influenciou negativamente o crescimento de células de arroz em razão da omissão de potássio na adubação. Outros estudos têm mostrado também a relação do acúmulo de putrescina com efeitos negativos no crescimento e desenvolvimento das plantas (TIBURCIO et al., 1990; KUSANO et al., 2007; GROPPA; BENAVIDES, 2008; WIMALASEKERA; TEBARTZ e SCHERER, 2011). A produção de forragem se correlacionou significativa e negativamente com a putrescina ($r=-0,91^{**}$), espermina ($r=-0,78^{*}$) e prolina nas LR ($r=-0,81^{*}$).

Figura 9 - Relação entre a produção de forragem e a concentração de putrescina nas LR do capim-marandu submetido à aplicação de formas de nitrogênio e doses de potássio

4.4 Conclusões

A concentração de nitrogênio total no capim-marandu diminuiu com incremento das doses de potássio, enquanto que a concentração de potássio foi incrementada pelas doses de potássio e pelas formas de nitrato e amídica. Os mais elevados valores SPAD foram observados para as formas de nitrato, nitrato+amônio e amídica, e a aplicação de doses de potássio incrementou o valor SPAD. A redutase do nitrato teve sua atividade aumentada pelas formas de nitrato+amônio e amídica, na presença da mais elevada dose de potássio. As concentrações de nitrato e amônio aumentaram com incremento das doses de potássio, com exceção da aplicação de amônio ao solo. As concentrações de putrescina, espermidina, espermina e prolina aumentaram com o fornecimento de amônio e a não aplicação de nitrogênio, mas diminuíram com incremento das doses de potássio. O coeficiente de correlação entre a produção de forragem e a concentração de putrescina foi de -0,91**.

Referências

- AGNUSDEI, M.G.; AGNUSDEI, S.G.; ASSUERO, F.A.; LATTANZI, A.; MARINO, M.A.; CRITICAL, N. Concentration can vary with growth conditions in forage grasses: implications for plant N status assessment and N deficiency diagnosis. **Nutrient Cycling in Agroecosystem**, Dordrecht, v. 88, p. 215–230, 2010.
- ALCÁZAR, R.; MARCO, F.; CUEVAS, J.C.; PATRON, M.; FERRANDO, A.; CARRASCO, P.; TIBURCIO, A.F.; ALTABELLA, T. Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. **Biotechnology Letters**, Madison, v. 28, p. 1867–1876, 2006.

ANURADHA, K.; SARMA, P.S. Effect of moisture stress and applied potassium on yield and biochemical parameters of soybean in vertisols. **Journal of Oilseeds Research**, Delhi, v. 12, p. 275-278, 1995.

BARNES, B.R.; RICHARDSON, D.; BERRY, J.W.; HOOD, R.L. Flame photometry. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry Research**, Madison, v. 17, p. 605-611, 1945.

BATES, L.S.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 39, p. 205-207, 1973.

BATISTA, K.; MONTEIRO, F.A. Nitrogen and sulphur in Marandu grass: relationship between supply and concentration in leaf tissues. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 64, p. 44-51, 2007.

_____. Nitrogen and sulphur on morphogenic characteristics of marandu palisadegrass replacing signalgrass under degradation in a low organic matter soil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, p. 1151-1160, 2008.

BONFIM-DA-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A. Nitrogen and sulphur for productive characteristics of signalgrass from degrading pasture area. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, p. 1289-1297, 2006.

BONFIM-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A.; SILVA, T.J.A. Nitrogen and sulphur on yield and water use efficiency of signalgrass from a degrading area. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 309-317, 2007.

BOUCHEREAU, A.; AZIZ, A.; LARHER, F.; MARTIN-TANGUY, J. Polyamines and environmental challenges: recent development. **Plant Science**, Clare, v. 140, p. 103-125, 1999.

BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 159, p. 567-584, 2002.

BULLOCK, D.G.; ANDERSON, D.S. Evaluation of the Minolta SPAD-502 chlorophyll meter for nitrogen management in corn. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 21, p. 741-755, 1998.

CAO, Y.; FAN, X.R.; SUN, S.B.; XU, G.H.; HU, J.; SHEN, Q.R. Effect of nitrate on activities and transcript levels of nitrate reductase and glutamine synthetase in rice. **Pedosphere**, Beijing, v. 18, p. 664-673, 2008.

CHATTOPADHAYAY, M.K.; TIWARI, B.S.; CHATTOPADHYAY, G.; BOSE, A.; SENGUPT, D.N.; GHOSH, B. Protective role of exogenous polyamines on salinity-stressed rice (*Oryza sativa*) plants. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 116, p. 192-199, 2002.

CHEN, J.G.; CHENG, S.H.; CAO, W.X.; ZHOU, X. Involvement of endogenous plant hormones in the effect of mixed nitrogen source on growth and tillering of wheat. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 21, p. 87-97, 1998.

COSTA, C.; DWYER, L.M.; DUTILLEUL, P.; STEWART, D.W.; MA, B.L.; SMITH, L. Interrelationships of applied nitrogen, SPAD, and yield of leafy and non-leafy maize genotypes. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 24, p. 1173-1194, 2001.

COSTA, K.A.P.; ARAÚJO, L.A.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I.P.; FIGUEIREDO, F.C.; GOMES, K.W. Extração de macronutrientes pela fitomassa do capim-Xaraés "Xaraés" em função de doses de nitrogênio e potássio. **Ciência Rural**, Porto Alegre, v. 38, p. 1162-1166, 2008.

DE BONA; F.D.; MONTEIRO, F.A. Marandu palisadegrass growth under nitrogen and sulphur for replacing Signal grass in degraded tropical pasture. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, p. 570-578, 2010.

DURU, M. Simplified nitrogen assessment of orchardgrass swards. **Agronomy Journal**, Madison, v. 96, p. 1598-1605, 2004.

EL-SHINTINAWY, F. Photosynthesis in two wheat cultivars differing in salt susceptibility. **Photosynthetica**, Dordrecht, v. 38, p. 615-620, 2000.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 286p.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2 ed. Londrina: Planta, 2006. 402p.

ERRECART, P.M.; AGNUSDEI, M.G.; LATTANZI, F.A.; MARIANO, M.A. Leaf nitrogen concentration and chlorophyll meter readings as predictors of tall fescue nitrogen nutrition status. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 129, p. 46-58, 2012.

FITZPATRICK, R.J.M.; GUILLARD, K. *Kentucky bluegrass* response to potassium and nitrogen fertilization. **Crop Science**, Madison, v. 44, p. 1721-1728, 2004.

FLORES, H.E.; GALSTON, A.W. Analysis of polyamines in higher plants by high performance liquid chromatography. **Plant Physiology**, Rockville, v. 69, p. 701-706, 1982.

FRECHILLA, S.; LASA, B.; IBARRETXE, L.; LAMSFUS, C.; APARICIO-TEJO, P. Pea responses to saline stress is affected by the source of nitrogen nutrition (ammonium or nitrate). **Plant Growth Regulation**, New York, v. 35, p. 171-179, 2001.

GERENDÁS, J.; ZHU, Z.; BENDIXEN, R.; RATCLIFFE, R.G.; SATTELMACHER, B. Physiological and biochemical processes related to ammonium toxicity in plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Berlin, v. 160, p. 239-251, 1997.

GROPPIA, M.D.; BENAVIDES, M.P. Polyamines and abiotic stress: recent advances. **Amino Acids**, Amsterdam, v. 34, p. 35-45, 2008.

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.

HISCOX, J.D.; ISRAELSTAM, G.F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, Ontário, v. 57, p. 1332-1334, 1979.

HOLZSCHUH, M.J.; BOHNEN, H.; ANGHINONI, I.; MEURER, E.J.; CARMONA, F.C.; COSTA, S.E.V.G.A. Resposta do arroz irrigado ao suprimento de amônio e nitrato. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 1323-1331, 2009.

HOUDUSSE, F.; ZAMARREÑO, A.M.; GARNICA, M.; GARCÍA-MINA, J.M. The importance of nitrate in ameliorating the effects of ammonium and urea nutrition on plant development: the relationships with free polyamines and plant proline contents. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 32, p. 1057-1067, 2005.

HOUDUSSE, F.; GARNICA, M.; ZAMARREÑO, A.M.; YVIN, J.C.; GARCÍA-MINA, J.M. Possible mechanism of the nitrate action regulating free-putrescine accumulation in ammonium fed plants. **Plant Science**, Clare, v. 175, p. 731-739, 2008.

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

JARVIS, S.C. The effect of low regulated supplies of nitrate and ammonium nitrogen on the growth and composition of perennial ryegrass. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 100, p. 99-112, 1987.

JOHNSON, C.B.; WHITTINGTON, W.J.; BLACKWOOD, G.C. Nitrate reductase as a possible predictive test of crop yield. **Nature**, London, v. 262, p. 133-134, 1976.

KAWACHI, T.; SHOJI, Y.; SUGIMOTO, T.; KLEINHOF, A.; WARNER, R.L.; OHTAKE, N.; OHYAMA, T.; SUEIOSHI, K. Role of xylem sap nitrate in regulation of nitrate reductase gene expression in leaves of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings. **Soil Science and Plant Nutrition**, Oxford, v. 48, p. 79-85, 2002.

KAYSER, M.; ISSELSTEIN, J. Potassium cycling and losses in grassland systems: a review. **Grass and Forage Science**, London, v. 60, p. 213-224, 2005.

KERING, M.K.; BUTLER, T.J.; BIERMACHER, J.T.; MOSALI, J.; GURETZKY, J.A. Effect of potassium and nitrogen fertilizer on switchgrass productivity and nutrient removal rates under two harvest systems on a low potassium soil. **Bioenergy Research**, Madison, v. 6, p. 329-335, 2013.

KEVERS, C.; BISBIS, B.; FRANCK, T.; LE-DILY, F.; HUAULT, C.; BILLARD, J.P.; FIODART, J.M.; GASPAR, T.H. On the possible causes of polyamine accumulation in in vitro plant tissues under neoplastic progression. In: GREPPIN, H.; PENEL, C.; SIMON, P. (Ed.) **Travelling shoot on plant development**, Universidade de Genebra, Suíça, 1997. p. 63-71.

KRONZUCKER, H.J.; SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M.; KIRK, G.J.D. Nitrate-ammonium synergism in rice. A subcellular flux analysis. **Plant Physiology**, Rockville, v. 119, p. 1041-1045, 1999.

KUSANO, T.; YAMAGUCHI, K.; BERBERICH, T.; TAKAHASHI, Y. Advances in polyamine research in 2007. **Journal of Plant Research**, Saitama, v. 120, p. 345-350, 2007.

LAVRES JUNIOR, J.; MONTEIRO, F.A. Nitrogen nutritional status in Aruana guineagrass in a controlled environment. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 829-837, 2006.

LAVRES JUNIOR, J.; SANTOS, J.D.G.; MONTEIRO, F.A. Nitrate reductase activity and SPAD readings in leaf tissues of guinea grass submitted to nitrogen and potassium rates. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, p. 801-809, 2010.

LARHER, F.; AZIZ, A.; DELEU, C.; LEMESLE, P.; GHAFAR, A.; BOUCHARD, F.; PLASMAN, M. Suppression of the osmo-induced proline response of rapeseed leaf discs by polyamines. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 102, p. 139-147, 1998.

LEE, R.B.; RUDGE, K.A. Effects of nitrogen deficiency on the absorption of nitrate and ammonium by barley plants. **Annals of Botany**, London, v. 57, p. 471-486, 1986.

LEIDI, E.O.; SILBERBUSH, M.; LIPS, S.H. Wheat growth as affected by nitrogen type, pH and salinity. I. Biomass production and mineral nutrition. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 14, p. 235-246, 1991.

LEIDI, E.O.; SILBERBUSH, M.; SOARES, M.; LIPS, S.H. Salinity and nitrogen nutrition studies on peanut and cotton plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 15, p. 591-604, 1992.

LIU, K.; FU, H.; BEI, Q.; LUAN, S. Inward potassium channel in guard cells as a target for polyamine regulation of stomatal movements. **Plant Physiology**, Rockville, v. 124, p. 1315-1326, 2000.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3rd ed. London: Academic Press, 2012. 651p.

MEGDA, M.M.; MONTEIRO, F.A. Nitrogen and potassium supply and the morphogenic and productive characteristics of marandu palisadegrass. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, p. 1666-1675, 2010.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. **Principles of plant nutrition**. London: Kluwer Academic, 2001. 849p.

MINOLTA CAMERA Co. **Manual for chlorophyll meter Spad** – 502. Osaka. 1989. 22p.

MONTEIRO, F.A.; LIMA, S.A.A.; WERNER, J.C.; MATTOS, H.B. Adubação potássica em leguminosas e em capim-Colonião (*Panicum maximum* Jacq.) adubado com níveis de nitrogênio ou consorciado com leguminosas. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 37, p. 127-148, 1980.

MONTEIRO, F.A.; RAMOS, A.K.B.; CARVALHO, D.D.; ABREU, J.B.R.; DAIUB, J.A.S.; SILVA, J.E.P.; NATALE, W. Cultivo de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em solução nutritiva com omissões de macronutrientes. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, p. 135-141, 1995.

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.

MULDER, E.G.; BOXMA, R.; van VENN, W.L. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate reduction in plant tissue. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 10, p. 335-355, 1959.

MUNZAROVA, E.; LORENZEN, B.; BRIX, H.; VOJTISKOVA, L.; VOTRUBOVA, O. Effect of $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ availability on nitrate reductase activity and nitrogen accumulation in wetland helophytes *Phragmites australis* and *Glyceria maxima*. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 49–60, 2006.

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

PRIMAVESI, A.C.; PRIMAVESI, O.; CORRÊA, L.A.; CANTARELLA, H.; SILVA, A.G. Absorção de cátions e ânions pelo capim-Coastcross adubado com ureia e nitrato de amônio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, p. 247-253, 2005.

PRIMAVESI, A.C.; PRIMAVESI, O.; CORRÊA, L.A.; SILVA, A.G.; CANTARELLA, H. Nutrientes na fitomassa de capim-Marandu em função de fontes e doses de nitrogênio. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, p. 562-568, 2006.

QIAN, X.; SHEN, Q.; XU, G.; WANG, J.; ZHOU, M. Nitrogen forms effects on yield and nitrogen uptake of rice crop grown in aerobic soil. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 27, p. 1061-1076, 2004.

RAJCAN, I.; DWYER, L.; TOLLENAAR, M. Note on relationship between leaf soluble carbohydrate and chlorophyll concentrations in maize during leaf senescence. **Field Crops Research**, Madison, v. 63, p. 13-17, 1999.

REDINBAUGH, M.G.; CAMPBELL, W.H. Glutamine synthetase and ferredoxin-dependent glutamate synthase expression in the maize (*Zea mays*) root primary response to nitrate. **Plant Physiology**, Rockville, v. 101, p. 1249–1255, 1993.

SANTOS, A.R. **Diagnose nutricional e respostas do capim-braquiária submetido a doses de nitrogênio e enxofre**. 1997. 115p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

SANTOS, J.H.S. **Proporções de nitrato e amônio na nutrição e produção dos capins Aruana e Marandu**. 2003. 81p. 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.

SCHEPERS, J.S.; FRANCIS, D.D.; VIGIL, M.; BELOW, F.E. Comparison of corn leaf nitrogen concentration and chlorophyll meter readings. **Communications in Soil Science Plant Analysis**, Philadelphia, v. 23, p. 2173-2187, 1992.

SPEER, M.; KAISER, W.M. Replacement of nitrate by ammonium as the nitrogen source increases the salt sensitivity of pea plants. II. Inter- and intracellular solute compartmentation in leaflets. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 17, p. 1223–1231, 1994.

SPEER, M.; BRUNE, A.; KAISER, W.M. Replacement of nitrate by ammonium as the nitrogen source increases the salt sensitivity of pea plants. I. Ion concentration in roots and leaves. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 17, p. 1215–1221, 1994.

SMITH, T.A.; BEST, G.R.; ABBOT, A.J.; CLEMENTS, E.D. Polyamines in Paul's Scarlet rose suspension culture. **Planta**, New York, v. 144, p. 63-68, 1978.

SONG, M.Z.; MAO, S.C.; YANG, H.Y. Effect of potassium on dry matter in cotton and physiological activity. **Acta Agriculturae Universitatis Henanensis**, Henanensis, v. 30, p. 191- 194, 1996.

SUNG, H.I.; LIU, L.F.; KAO, C.H. Putrescine accumulation is associated with growth inhibition in suspension-cultured rice cells under potassium deficiency. **Plant and Cell Physiology**, Tóquio, v. 35, p. 313–316, 1994.

SZCZERBA, M.W.; BRITTO, D.T.; ALI, S.A.; BALKOS, K.D.; KRONZUCKER, H.J. NH_4^+ -stimulated and -inhibited components of K^+ transport in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 59, p. 3415-3423, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 2nd ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Departamento de Solos/ UFRGS, 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5).

TIMPO, E.E.; NEYRA, C.A. Expression of nitrate and nitrite reductase activities under various forms of nitrogen nutrition in *Phaseolus vulgaris* L. **Plant Physiology**, Rockville, v.72, p. 71-75, 1983.

TONON, G.; KEVERS, C.; FAIVRE-RAMPANT, O.; GRAZIANI, M.; GASPAR, T. Effect of NaCl and mannitol iso-osmotic stresses on proline and free polyamine levels in embryogenic *Fraxinus angustifolia* callus. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 161, p. 701–708, 2004.

UMAR, S.; BANSAL, S.K. Potassium requirement of mustard (*Brassica juncea* L.) under moisture stress conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 22, p. 130-135, 1995.

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).

WHITEHEAD, D.C. Volatilization of ammonia. In: WHITEHEAD, D.C. (Ed.) **Grassland nitrogen**. Wallingford, England: CAB International, 1995. p.152-179.

WIMALASEKERA, R.; TEBARTZ, F.; SCHERER, G.F.E. Polyamines, polyamine oxidases and nitric oxide in development, abiotic and biotic stresses. **Plant Science**, Clare, v. 181, p. 593-603, 2011.

WOLF, D.D.; KIMBROUGH, E.L.; BLASER, R.E. Photosynthetic efficiency of alfalfa with increasing potassium nutrition. **Crop Science**, Madison, v. 16, p. 292-294, 1976.

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.

YAMAMOTO, A.; SHIM, I.S.; FUJIHARA, S.; YONEYAMA, T.; USUI, K. Effect of difference in nitrogen media on salt-stress response and contents of nitrogen compounds in rice seedlings. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tóquio, v. 50, p. 85-93, 2004.

YANG, Y.; ZHANG, M.; LI, Y.C.; FAN, X.; GENG, Y. Controlled release urea improved nitrogen use efficiency, activities of leaf enzymes, and rice yield. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 76, p. 2307-2317, 2012.

YILDIRIM, M.; KILIÇ, H.; KENDAL, E.; KARAHAM, T. Applicability of chlorophyll meter readings as yield predictor in durum wheat. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 34, p. 151-164, 2011.

5 TRANSFORMAÇÕES DO NITROGÊNIO EM NEOSSOLO RECEBENDO FORMAS DE NITROGÊNIO E MATERIAL VEGETAL DE CAPIM-MARANDU

Resumo

As frações de nitrogênio do solo podem ser alteradas pelas formas de nitrogênio e entradas de carbono no solo. Objetivou-se avaliar as transformações do nitrogênio inorgânico e orgânico em Neossolo proveniente de área de pastagem degradada e submetido à aplicação de formas de nitrogênio e adição de material vegetal de capim-marandu. Foram estudadas duas formas de nitrogênio (nitrato e amônio, enriquecidos a 1% de átomos de ^{15}N) e o controle (sem nitrogênio) em conjunto com material vegetal de capim-marandu (presença/ausência), em um total de seis combinações. A incubação aeróbia foi conduzida durante oito períodos (0, 1, 2, 4, 8, 12, 16 e 20 semanas) e em cada período os tratamentos foram repetidos três vezes, totalizando 144 unidades experimentais. O delineamento experimental utilizado foi o completamente ao acaso. Os seguintes parâmetros foram avaliados: concentrações de nitrogênio, nitrato, amônio, nitrogênio orgânico hidrolisado (aminoácidos, aminoaçúcar, amônio e total), carbono orgânico e ^{15}N . Os teores de carbono orgânico foram incrementados pela aplicação de material vegetal de capim-marandu e pelas formas de nitrogênio. Ao longo do período de incubação, entretanto, observou-se decréscimo para os teores de carbono. Quando o nitrato e o amônio foram aplicados ao solo sem o material vegetal de capim-marandu constatou-se mineralização do nitrogênio orgânico, mas quando aplicados em solo com o material vegetal, ambos foram imobilizados. Baixos teores de $^{15}\text{NH}_4^+$ no solo foram observados após a segunda, possivelmente devido à imobilização do amônio pelos microrganismos do solo, em todas as combinações. A aplicação de amônio juntamente com material vegetal de capim-marandu resultou nos mais elevados teores de amônio, aminoácido, aminoaçúcar e nitrogênio total hidrolisados. Os menores teores de amônio, aminoácido, aminoaçúcar e nitrogênio total hidrolisados foram observados para as formas de nitrogênio amônio e nitrato sem material vegetal de capim-marandu.

Palavras-chave: Aminoácido; Amônio; Aminoaçúcar; Nitrato; Nitrogênio orgânico hidrolisado

Abstract

Soil nitrogen fractions may be affected by nitrogen forms and soil carbon inputs. This study aimed to assess the transformations of inorganic and organic nitrogen in a degraded Entisol pasture treated with nitrogen forms and addition of Marandu palisadegrass residue. Two forms of nitrogen (nitrate and ammonium enriched with 1% ^{15}N atoms) plus the control (no nitrogen), were combined with Marandu residue (presence/absence), in a total of six combinations. The aerobic incubation was carried out during eight periods (0, 1, 2, 4, 8, 12, 16 and 20 weeks) and in each period the treatments were replicated three times, totalizing 144 experimental units. The experimental design consisted on a completely randomized design. The following parameters were evaluated: concentrations of nitrate, ammonium, hydrolyzed organic nitrogen concentration (amino acid, amino sugar, and total nitrogen), organic carbon and ^{15}N . The organic carbon increased with the application of Marandu residue and with the nitrogen forms. Over the incubation periods, however, it showed decrease values. When nitrate and ammonium were applied to soil without Marandu residue observed mineralized nitrogen from organic nitrogen, whereas with the residue, they were immobilized. Low $^{15}\text{NH}_4^+$ soil contents were observed after the second week of incubation, most likely due to soil microorganism immobilization, for all combinations. The application of ammonium

together with Marandu residue resulted in higher concentrations of ammonium, amino acid, amino sugar and total nitrogen hydrolysates. The lowest content for ammonium, amino acid, amino sugar and total nitrogen hydrolysates were observed for ammonium and nitrate without Marandu residue.

Keywords: Amino acid; Ammonium; Amino Sugar; Nitrate; Hydrolyzable organic nitrogen

5.1 Introdução

A forma de nitrogênio aplicada e as entradas de carbono no solo têm influência direta nas taxas de mineralização e imobilização do nitrogênio no solo, alterando a disponibilidade do nitrogênio para as plantas. Os microrganismos são participantes ativos nas reações que envolvem as transformações do nitrogênio e do carbono no solo, uma vez que a mineralização e a imobilização de nitrogênio são mediados pelos sistemas enzimáticos desses microrganismos.

Com a adição de material vegetal ao solo, o equilíbrio entre mineralização e imobilização de nitrogênio é afetado, uma vez que ambos ocorrem simultaneamente, enquanto a relação carbono:nitrogênio do material vegetal adicionado determina qual deles prevalecerá (BURGER; JACKSON, 2003). A relação carbono:nitrogênio do material vegetal adicionado no solo tem grande efeito na assimilação de nitrogênio pelos microrganismos. Quando a relação carbono:nitrogênio é ampla (ao redor de 40), o processo dominante no solo é a imobilização, enquanto que se a relação estiver ao redor de 20 prevalece a mineralização (WHITMORE, 1996; CABRERA; KISSEL e VIGIL, 2005). Entretanto, outras propriedades do material vegetal, como as concentrações de lignina e celulose podem afetar as taxas de mineralização do nitrogênio no solo.

O fracionamento do nitrogênio orgânico do solo pode ajudar a quantificar os processos de imobilização/mineralização, bem como obter um índice de disponibilidade desse nutriente para as plantas, em especial ao se quantificar a fração aminoaçúcar, considerada a mais lábil para microrganismos e plantas (OSBORNE, 1977; MULVANEY; KHAN, 2001). De forma geral, pequena fração do nitrogênio total do solo que se encontra prontamente disponível às plantas está nas formas de amônio e nitrato (BREMNER, 1996; RAIJ, 2011), usualmente com predomínio do nitrato no solo em condições aeróbias. Dessa forma, estudos que quantifiquem as frações do nitrogênio orgânico do solo, o maior reservatório de nitrogênio do solo para as plantas e em especial a fração aminoaçúcar, são de suma importância para melhor compreensão das respostas das plantas à adubação nitrogenada.

A decomposição do material vegetal pelos microrganismos é influenciada pela disponibilidade de nitrogênio mineral e adição de carbono no solo, em especial material vegetal com ampla relação carbono:nitrogênio (HENRIKSEN; BRELAND, 1999; ÅGREN et al., 2001). Recentemente, Ding et al. (2010) constataram que a adição de nitrogênio mineral afetou o *pool* de aminoaçúcar do solo durante a decomposição do material vegetal e que mais elevadas quantidades de aminoaçúcar acumularam no solo com o aumento no fornecimento de nitrogênio mineral. As informações a respeito de como o material vegetal adicionado no solo pode ser incorporado pelas frações de nitrogênio e como a aplicação de nitrogênio mineral afeta os processos de mineralização e imobilização não estão totalmente esclarecidos e ainda sabe-se que as entradas de carbono no solo influenciam no potencial de mineralização de nitrogênio, contribuindo para a nutrição das plantas. Dessa forma, objetivou-se avaliar as transformações do nitrogênio inorgânico e orgânico em Neossolo proveniente de área de pastagem degradada e submetido à aplicação de formas de nitrogênio e adição de material vegetal de capim-marandu.

5.2 Material e métodos

5.2.1 Local de estudo e características do solo

O estudo foi conduzido nas dependências da Universidade de Illinois em Urbana-Champaign, Estados Unidos. O solo utilizado foi coletado na camada de 0-20 cm de profundidade, na região de Piracicaba, Estado de São Paulo e foi classificado como Neossolo Quartzarênico (EMBRAPA, 2006). Esse mesmo solo foi utilizado no experimento de formas de nitrogênio e doses de potássio em casa de vegetação com o capim-marandu. Procedeu-se a secagem ao ar durante o período de 20 dias e, após esse tempo, o solo foi passado em peneira de malha de 2 mm, para descarte de cascalhos, raízes e folhas. As características químicas da amostra do solo, antes de qualquer tratamento, foram: pH (CaCl₂) = 4,20; M.O. = 11,0 g kg⁻¹; P-resina e S-sulfato = 6,0 e 6,0 mg dm⁻³, respectivamente; K, Ca, Mg, H + Al, SB e CTC igual a 1,0; 3,0; 2,0; 16,0; 6,0 e 22,0 mmol_c dm⁻³, respectivamente, V = 27,0 e m = 16,5%. Os teores iniciais de nitrato, amônio e nitrogênio total foram 20; 23 e 69 mg kg⁻¹, respectivamente. A granulometria do solo teve argila = 6,04%; silte = 3,93%; areia total = 90,03% e areia grossa = 35,27%.

5.2.2 Tratamentos e condução do experimento

Foram colocados 700 g de solo seco em cada frasco para pré-incubação no escuro, à temperatura de 25°C e umidade relativa de 90%, durante 40 dias, antes da instalação do experimento. Foram adicionados 37,8 mL de água desionizada para atingir 40% da capacidade retenção de água desse solo, segundo metodologia de Bremner e Shaw (1958). Esse procedimento foi necessário para reestimar à atividade microbiana no solo seco. Em três frascos, dos seis utilizados para incubar o solo, foram adicionados 4 g kg⁻¹ de solo de material vegetal de capim-marandu (R) e que foi homogeneizado com o solo, com o objetivo de fornecer carbono para os microrganismos. As características bromatológicas do material vegetal utilizado foram: matéria seca=95,1%; FDN=63,5%; FDA=34,2%; celulose=31,4%; lignina=3,21%, nitrogênio total=15,7 g kg⁻¹ e relação C/N=19. Após o período de incubação foram colocados 20 g de solo, na base seca, em 144 frascos de plástico com tampa e capacidade de 120 mL.

Foram estudadas duas formas de nitrogênio: nitrato e amônio, com e sem a aplicação de material vegetal de capim-marandu, mais os controles, apenas solo (Zero N) e solo mais material vegetal de capim-marandu (Zero N + R), totalizando seis combinações. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições. O experimento de incubação aeróbica foi mantido por 20 semanas, em incubadoras à temperatura de 25°C e umidade relativa de 85-90%. Foram estudos oito períodos de avaliação (0; 1; 2; 4; 8; 10; 16 e 20 semanas), totalizando 144 unidades experimentais, das quais 18 unidades experimentais foram destruídas a cada extração. A umidade do solo foi corrigida para 60% da máxima capacidade de retenção de água a cada três dias. O nitrogênio foi aplicado na dose de 215 mg kg⁻¹ de solo (300 mg dm⁻³), ou seja, a mesma dose estudada no experimento de casa de vegetação com capim-marandu. Foram preparadas duas soluções contendo 1% de átomos de ¹⁵N da seguinte forma: solução 1 – 8,45 g de (NH₄)₂SO₄ e solução 2 – 12,86 g de KNO₃. Em cada unidade experimental foi aplicado 0,6 mL dessa solução fornecedora de nitrogênio, com o objetivo de aplicar 215 mg kg⁻¹ de solo e 1% de átomos de ¹⁵N. Essas soluções foram aplicadas gota a gota, com o auxílio de uma pipeta, de maneira uniforme, e com isso a umidade do solo foi elevada e mantida em 60% da máxima capacidade de retenção durante todo período experimental.

Para proceder as extrações foram adicionados 120 mL de solução de KCl 2 mol L⁻¹, as amostras foram colocadas para agitar por 60 minutos (BREMNER; KEENEY, 1966) e depois filtradas com filtro de quartzo QF/C, com auxílio de funis de buchner de polipropileno (5,5 cm de diâmetro) e a vácuo. O lixiviado foi recolhido em frascos de vidro e estocado em geladeira a 5°C para posterior determinação do nitrogênio inorgânico. O solo retido no filtro foi

colocado para secar em estufa com ventilação forçada a 40°C até massa constante, sendo posteriormente moído em mortar até passar em peneira com malha de 0,149 mm. Nessas amostras de solo foram determinados o carbono orgânico e as frações aminoácido, aminoaçúcar, amônio e total do nitrogênio orgânico hidrolisável.

5.2.3 Determinação do nitrogênio inorgânico e orgânico do solo

Para as determinações de nitrogênio inorgânico e orgânico do solo foram utilizados, respectivamente, o método da difusão (KHAN; MULVANEY e MULVANEY, 1997) e da hidrólise (MULVANEY; KHAN, 2001). Nesses métodos foram utilizadas câmaras de difusão, tipo *Mason jar* de 473 mL, em que a tampa foi modificada para suportar placas de Petri de acrílico de 60 mm de diâmetro suspensas, onde foram adicionados 5 mL de solução de ácido bórico 40 g L⁻¹ mais indicadores e, em seguida, as câmaras difusoras foram colocadas sobre chapas aquecedoras pré-aquecidas a 48-50°C, acopladas a reguladores de temperatura. A temperatura foi previamente aferida por termômetros inseridos dentro da câmara contendo béquer com 100 mL de água desionizada e todas as placas foram dispostas dentro de caixas plásticas de 30 L com tampa, para reduzir o efeito da temperatura ambiente do laboratório. Completado o tempo de difusão para cada análise, as placas de Petri foram retiradas das câmaras de difusão e receberam 5 mL de água desionizada, realizando-se a titulação com ácido sulfúrico (0,01 mol L⁻¹) até o pH final determinado em 5 mL de solução de ácido bórico mais indicadores mais 5 mL de água desionizada, que foi previamente inserido no titulador automático acoplado em eletrodo de superfície plana para determinação do amônio.

Para determinação do amônio e do nitrato foram colocados 10 mL do lixiviado de KCl 2 mol L⁻¹ em *Mason jar*, sendo que para determinar o amônio foi utilizado 0,2 g de óxido de magnésio e para determinar o nitrato mais nitrito foi adicionado 0,2 g de óxido de magnésio mais 0,2 g de liga de Devarda. Os *Mason jars* foram fechados e levados para chapas pré-aquecidas por 2 h. Para a determinação das frações do nitrogênio orgânico hidrolisado foram pesados 5 g de solo, adicionados 20 mL de ácido clorídrico 6 mol L⁻¹ e 5 gotas de octanol, (para evitar a formação de espuma) em balões de fundo redondo de 50 mL. Em seguida, os balões foram acoplados em condensadores de Liebig de 40 cm, sob refluxo, e mergulhados em banho de óleo a 110°C por 12 h. Após esse período procedeu-se a filtragem das amostras com papel de filtro número 42, as amostras foram neutralizadas por meio das adições sequenciais de hidróxido de sódio 10, 5 e 1 mol L⁻¹, até a amostra neutralizada atingir pH

entre 6,1 e 6,2 (BREMNER, 1965; STEVENSON, 1996). O lixiviado neutralizado foi diluído a 100 mL e estocado em geladeira a 5°C.

Para determinar o amônio hidrolisado foram pipetados 10 mL do lixiviado neutralizado em *Mason jar* e adicionado 0,05 g de óxido de magnésio. As amostras foram colocadas em incubadora a 25°C por 26 h e após esse período procedeu-se a leitura das amostras em titulador automático, conforme descrito. No caso do nitrogênio total hidrolisado foram pipetados 5 mL do lixiviado neutralizado para tubos de digestão de 60 mL, adicionado 0,5 g de mistura digestora de sulfato de potássio mais catalisadores e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado 18 mol L⁻¹. Os tubos de digestão foram colocados em bloco digestor cobertos com funis de buchner de vidro por 1,5 h a 150°C, 1,0 h a 250°C e 3,0 h a 350°C. A difusão foi realizada lavando-se quatro vezes as paredes dos tubos com alíquotas de 10 mL de água desionizada, agitando com auxílio de vortex e colocadas nos *Mason jars* e adicionando 10 mL de hidróxido de sódio 10 mol L⁻¹. As amostras foram fechadas e colocadas em difusão sobre as chapas aquecedoras pré-aquecidas 48-50°C por 4 h e após esse período procedeu-se a leitura das amostras em titulador automático, conforme descrito.

Para a determinação da fração amônio mais aminoaçúcar foram pipetados 10 mL do neutralizado e 2 mL de hidróxido de sódio 10 mol L⁻¹ em *Mason jar* que foi colocado em difusão sobre chapas aquecedoras pré-aquecidas 48-50°C por 5 h e após esse período procedeu-se a leitura das amostras em titulador automático. A fração aminoácido foi determinada de modo sequencial à fração amônio mais aminoaçúcar adicionando 2,5 mL de ácido sulfúrico 5 mol L⁻¹, 1 mL de solução de metanol mais ninidrina e posteriormente os *Mason jars* foram colocados em chapas aquecedoras por 1,5 h a 90-100°C para degradação dos aminoácidos pela ninidrina. Após esfriar, foi adicionado 1 mL de hidróxido de sódio 10 mol L⁻¹, os *Mason jars* foram fechados e colocados em difusão sobre as chapas aquecedoras pré-aquecidas 48-50°C por 2 h e, após esse período, procedeu-se a leitura das amostras em titulador automático.

5.2.4 Determinação do ¹⁵N

Após a difusão das amostras, o amônio coletado no ácido bórico 40 g L⁻¹ mais indicadores foi quantificado em titulador automático acoplado em eletrodo de superfície plana. As amostras foram acidificadas com 0,01 mL de ácido sulfúrico 1 mol L⁻¹ e evaporadas em chapas aquecedoras a 50°C. A evaporação foi repetida com a adição de 5 mL de metanol para remover o ácido bórico e novamente com 5 mL de água desionizada, para evitar a contaminação do espectrofotômetro. Após esse procedimento foi adicionado 1 mL de solução

de sulfato de amônio (500 µg de N/mL de solução) para possibilitar a leitura de amostras com baixa concentração de nitrogênio. Foram pipetadas alíquotas de 200 µL em microplacas que foram levadas para estufa a 60°C para secagem final e o ^{15}N foi determinado em espectrofotômetro de massa equipado com um sistema automatizado com preparo de amostras pelo método de Rittenberg (MULVANEY, 1993).

Com os resultados de abundância isotópica foram calculadas as porcentagens de nitrogênio no solo proveniente do fertilizante que foram nitrificadas e imobilizadas por meio dos microrganismos presentes no solo. Cada amostra sem adição de nitrogênio também foi analisada por espectrometria de massa, para determinar a concentração isotópica natural média (c) de ^{15}N . As fórmulas utilizadas para o cálculo foram:

$$\text{NSPF (\%)} = [(a - c)/(b - c)] \times 100; \text{NSPF (mg kg}^{-1}\text{)} = (\text{NSPF (\%)} / 100) \times \text{N-total}$$

Onde: NSPF – nitrogênio no solo proveniente do fertilizante ($^{15}\text{NO}_3^-$ ou $^{15}\text{NH}_4^+$); a – abundância em átomos de ^{15}N no solo; b – abundância em átomos de ^{15}N no fertilizante; c – abundância natural em átomos de ^{15}N (0,366%) e N-total – nitrogênio total no solo em mg kg^{-1} .

5.2.5 Determinação do carbono

Na determinação do carbono orgânico foi utilizado o método de Mebius (1960). Nesse método a completa oxidação da matéria orgânica é garantida pelo aquecimento das amostras em chapas aquecedoras, nas quais as amostras são fervidas suavemente por 30 minutos em *elenmeyers* acoplados a condensadores. Para esse procedimento foi pesado 0,3 g de solo em *elenmeyer* de 125 mL, adicionados 10 mL de solução de dicromato de potássio 1,0 mol L⁻¹ e 15 mL de ácido sulfúrico concentrado 18 mol L⁻¹. Em seguida as amostras foram levadas para chapa aquecedora por 30 minutos e após esse período foram adicionados 50 mL de água desionizada. A titulação foi realizada com a solução de Mohr's 0,40 mol L⁻¹ (78,39 g de sulfato de amônio ferroso hidratado mais 50 mL de ácido sulfúrico 18 mol L⁻¹), colocando antes indicador (0,1 g de ácido N-fenilntranílico mais carbonato de sódio em 100 mL de água desionizada) nas amostras.

5.2.6 Cálculo do balanço do nitrogênio mineral do solo

Para o cálculo do balanço do nitrogênio mineral do solo foram descartados os períodos de avaliação 0, 1, e 2 semanas, devido à lixiviação das amostras com 30 mL de cloreto de cálcio 0,01 mol L⁻¹ e em seguida a lixiviação com duas alíquotas de 25 mL de solução nutritiva, desprovida de nitrogênio, formulada segundo Stanford e Smith (1972). Esse

procedimento foi necessário para controlar a imobilização do nitrogênio. O cálculo foi realizado segundo a fórmula: $\text{BNms (mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}) = [\text{Tnm}_x - \text{Tnm}_{x-1}]/d$; Onde: BNms = Balanço do nitrogênio mineral do solo; Tnm_x = Teor de nitrogênio mineral no tempo posterior; Tnm_{x-1} = Teor de nitrogênio mineral no tempo anterior e d = período em dias

5.2.7 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o teste F, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, ambos a 5% de probabilidade. O programa utilizado foi o SAS (2004).

5.3 Resultados e discussão

5.3.1 Teores de nitrato e amônio

Os teores de nitrogênio mineral do solo, para o controle (Zero N), apresentaram pequeno incremento em função do período de avaliação, com valores variando de 49 a 81 mg kg^{-1} entre o momento da aplicação das formas de nitrogênio e a 20ª semana, respectivamente. Quando foi adicionado o material vegetal de capim-marandu, sem a aplicação de nitrogênio (Zero N + R), observou-se decréscimo no teor de nitrogênio mineral de 82 para 27 mg kg^{-1} , no período de 20 semanas (Figura 1a). Dessa forma, pode-se constatar que o nitrogênio proveniente da mineralização da matéria orgânica do solo foi imobilizado pelos microrganismos, quando foi fornecido carbono. Para as combinações em que foram fornecidos nitrato ou amônio observou-se incremento nos teores de nitrogênio mineral no solo para ambas as formas, com valores médios 14% maiores para o amônio em relação à aplicação de nitrato, no período de 20 semanas (Figura 1a). Pode-se notar ainda que a partir da 12ª semana a mineralização do nitrogênio estabilizou, uma vez que os teores de nitrogênio mineral no solo não aumentaram significativamente, em função do período experimental.

A adição do material vegetal de capim-marandu, como fonte de carbono, junto com o fornecimento de nitrogênio promoveu rápida imobilização do nitrogênio, com os valores se estabilizando a partir da 8ª semana. A imobilização de nitrogênio aplicado no solo, quando se adicionou o material vegetal de capim-marandu, representou 87 e 80% da dose de nitrogênio aplicada, para nitrato e amônio, respectivamente. Azam, Simmons e Mulvaney (1993) encontraram resultados semelhantes em experimento avaliando a mineralização da palha de milho (*Zea mays*). Segundo esses autores, o nitrogênio mineral inicialmente presente no solo

foi imobilizado durante a decomposição da matéria orgânica nas primeiras duas semanas, que foi subsequentemente mineralizada, em quantidade mais baixa quando se comparou com o solo sem adição de palha de milho.

Para o solo não tratado com o material vegetal de capim-marandu, a mineralização e posterior nitrificação do amônio ocorreu durante todo o período experimental, indicando haver estreita relação carbono/nitrogênio (Figura 1b). Resultados similares foram reportados por Geisseler, Joergensen e Ludwig (2012), que estudando as mudanças de disponibilidade de carbono e nitrogênio na incorporação de palha de trigo (*Triticum aestivum*) e absorção de nitrogênio pelos microrganismos do solo, observaram que quando não foi fornecida a palha de trigo a mineralização do nitrogênio ocorreu durante as 12 semanas de incubação em solos arenosos. A adição de material vegetal de capim-marandu ocasionou a imobilização do nitrogênio aplicado no solo, nas formas de nitrato e de amônio, uma vez que os teores de nitrato no solo diminuíram em cerca de 90% (Figura 1b). Silva et al. (1999) avaliaram as transformações do nitrogênio do solo em função da aplicação de vinhaça enriquecida com ^{15}N na superfície do solo, de forma isolada ou combinada com ureia e/ou com palha de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*). A aplicação de nitrogênio na forma amídica aumentou a disponibilidade de nitrogênio mineral proveniente da vinhaça, mas quando a palha de cana foi adicionada o teor de nitrogênio mineral proveniente da vinhaça foi mais baixo, sugerindo imobilização do nitrogênio pela microbiota do solo.

Os teores de amônio no solo influenciaram em mais baixa magnitude os valores de nitrogênio mineral do solo ($\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$), uma vez que cerca de 90% do teor inicial de amônio foi imobilizado pela microbiota do solo a partir da segunda semana de incubação (Figura 1c). O nitrogênio na forma de amônio é preferido pelos microrganismos do solo (MERRICK; EDWARDS, 1995; MARZLUF, 1997), visto que não necessita ser reduzido por sistemas enzimáticos para incorporação nos aminoácidos das bactérias e fungos (RECOUS; MARY e FAURIE, 1990). Quando os teores de amônio no solo estão baixos os microrganismos podem utilizar outras formas de nitrogênio como o nitrato, aminoácido ou aminoaçúcar, que podem contribuir significativamente para nutrição dos microrganismos do solo (LUXHØI et al., 2006; GEISSELER; HORWATH e DOANE, 2009). Outro processo de transformação do nitrogênio que pode estar relacionado com a rápida redução do teor de amônio no solo, a partir da segunda semana, é a nitrificação do amônio promovida por condições temporárias, porém suficientemente favoráveis ao processo de nitrificação (SANDANAM; KRISHNAPILLAI e SABARATNAM, 1978; WICKRAMASINGHE; RODGERS e JENKINSON, 1985).

Figura 1 – Teores de nitrogênio mineral -NO₃⁻+NH₄⁺- (a), nitrato -NO₃⁻- (b) e amônio -NH₄⁺- (c) no solo, em função das combinações de formas de nitrogênio e adição ou não de material vegetal do capim-marandu, durante o período de avaliação de 20 semanas. As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as combinações de formas de nitrogênio com material vegetal de capim-marandu, dentro de cada período de avaliação, pelo teste de Tukey (p<0,05)

Todas as transformações do nitrogênio no solo são mediadas por sistemas enzimáticos de microrganismos que requerem carbono, nitrogênio e energia para sintetizar proteínas (GEISSELER et al., 2010). Quando os teores de carbono no solo tornam-se limitantes em relação ao nitrogênio, moléculas orgânicas que possuem nitrogênio podem ser utilizadas como fonte de carbono e, neste caso, os microrganismos concorrem com as plantas pelo nitrogênio no solo. No entanto, se os microrganismos utilizarem grandes quantidades de moléculas nitrogenadas como fonte de carbono, o excesso de nitrogênio é liberado como amônia, ocorrendo mineralização (amonificação ou mineralização bruta), sem morte da biomassa microbiana.

Quando foi aplicado nitrato ou amônio ao solo, o aumento da mineralização do nitrogênio orgânico do solo foi devido ao conhecido *priming effect*. Este pode ser definido como a mudança nos processos de mineralização e imobilização de nitrogênio, em um curto espaço de tempo, ocasionado pela aplicação de nitrogênio ou entrada de carbono no sistema (KUZYAKOV; FRIEDEL e STAHR, 2000). Durante o *priming effect* pode ocorrer liberação ou imobilização de grandes quantidades de nitrogênio, carbono e outros nutrientes em um espaço de tempo muito curto. Assim, o nitrogênio pode ser absorvido pelas plantas ou ser perdido por volatilização de amônia ou lixiviação de nitrato, para os casos de solos aerados, que favoreçam a nitrificação. Muitos trabalhos têm mostrado que a adição de nitrogênio e carbono promove aumento nas taxas de mineralização/imobilização do nitrogênio do solo (AZAM; LODHI e ASHRAF, 1991; RAO et al., 1991; KUZYAKOV; FRIEDEL e STAHR, 2000; FONTAINEA; MARIOTTIB e ABBADIEA, 2003).

5.3.2 Balanço de nitrogênio e ^{15}N -inorgânico

O balanço do nitrogênio mineral no solo reflete os processos de mineralização e imobilização de nitrogênio no solo por semana (Figura 2). Os valores negativos representam os processos de imobilização de nitrogênio e ocorrem quando houve entrada de carbono no sistema. No presente experimento, quando foi aplicado amônio ou nitrato no solo que tinha mais elevado teor de carbono, a imobilização do nitrogênio ocorreu em mais elevada intensidade. Isso ocorreu porque solo com mais elevado teor de carbono pode ter duas vezes mais biomassa microbiana do que solo com mais baixo teor de carbono (GEISSELER et al., 2010). Os valores positivos representam o processo de mineralização do nitrogênio do solo. Quando não houve aplicação de nitrogênio (Zero N) e material vegetal de capim-marandu (Zero N + R) foi observado o balanço de nitrogênio mineral com valores em torno de zero durante todo período experimental. Isso indica que nesses casos os processos de

mineralização e imobilização de nitrogênio se equivaleram. Os processos de mineralização e imobilização de nitrogênio representam um subciclo dentro do ciclo do nitrogênio, sendo que a prevalência de um sobre o outro caracteriza se o solo terá maior ou menor disponibilidade de nitrogênio inorgânico para as plantas (BURGER; JACKSON, 2003).

Figura 2 – Balanço do nitrogênio mineral do solo em função das combinações de formas de nitrogênio com adição ou não de material vegetal do capim-marandu, durante o período de avaliação de 20 semanas. As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as combinações de formas de nitrogênio com material vegetal de capim-marandu, dentro de cada período de avaliação, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

A porcentagem de recuperação de $^{15}\text{NO}_3^-$ no solo diminuiu com o passar do tempo, no período de 20 semanas, para as combinações que receberam nitrato (Figura 3a). Esse resultado confirma a absorção dessa forma de nitrogênio pela microbiota do solo (imobilização) durante as primeiras oito semanas. No caso da aplicação de nitrato e amônio em solo com mais baixo teor de carbono orgânico, a recuperação do $^{15}\text{NO}_3^-$ proveniente do fertilizante aplicado no solo foi maior do que quando foi aplicado em um solo com mais elevado teor de carbono. Em condições de elevado teor de carbono os microrganismos são mais ativos e presentes em maior número, de modo que o nitrogênio aplicado é imobilizado em mais elevada quantidade, como pode ser observado na Figura 3a e foi relatado por Recous, Mary e Faurie (1990) e Geisseler, Joergensen e Ludwig (2012).

A porcentagem de $^{15}\text{NO}_3^-$ do solo recuperada, quando se efetuou a aplicação de nitrogênio nas formas de nitrato e de amônio foram 92 e 15%, que representam nitrogênio de 198 e 32 mg kg⁻¹, respectivamente. Quando a aplicação dessas formas ocorreu em solo com

mais elevado teor de carbono as recuperações observadas foram 77 e 8%, que representam nitrogênio de 165 e 17 mg kg⁻¹, respectivamente. Isso comprova que 50 e 198 mg kg⁻¹ de nitrogênio foram imobilizados no momento da aplicação do nitrogênio, em solo com mais elevado teor de carbono. Na 20ª semana de avaliação, a recuperação do nitrogênio proveniente das formas de nitrogênio aplicadas foi de 30% para ¹⁵NO₃⁻ e ¹⁵NH₄⁺, correspondendo a nitrogênio de 64 mg kg⁻¹, em solo com mais baixo teor de carbono. Em solo com mais elevado teor de carbono a recuperação foi de 25% para o ¹⁵NO₃⁻ e de 20% para o ¹⁵NH₄⁺, o que representa nitrogênio de 54 e 43 mg kg⁻¹, respectivamente.

Figura 3 – Nitrogênio no solo proveniente do fertilizante (NSPF) na forma de nitrato (a) e amônio (b) do solo, em função das combinações de formas de nitrogênio e adição ou não de material vegetal do capim-marandu, durante o período de avaliação de 20 semanas. As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as combinações de formas de nitrogênio com material vegetal de capim-marandu, dentro de cada período de avaliação, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Em termos da porcentagem de recuperação de $^{15}\text{NH}_4^+$ do solo, observou-se grande redução dos teores de amônio na segunda semana de avaliação, com porcentagens de recuperação de $^{15}\text{NH}_4^+$ menores do que 1% (Figura 3b). No caso da aplicação de nitrogênio na forma de $^{15}\text{NH}_4^+$ a recuperação foi de 98% (210 mg kg^{-1}) no momento da aplicação das formas de nitrogênio no solo e de 1,98% ($4,2 \text{ mg kg}^{-1}$) na 20ª semana. Quando o $^{15}\text{NH}_4^+$ foi aplicado no solo com mais elevado teor de carbono a recuperação foi de 84% (180 mg kg^{-1}) no momento da aplicação das formas de nitrogênio e de 1,20% ($2,5 \text{ mg kg}^{-1}$) na 20ª semana de avaliação. Esses resultados comprovam a grande afinidade dos microrganismos do solo pelo nitrogênio na forma de amônio (MERRICK; EDWARDS, 1995; MARZLUF, 1997) e, que, possivelmente, devido às condições favoráveis de temperatura, umidade e aeração o processo de nitrificação deve ter ocorrido (SCHMIDT, 1982).

No caso da aplicação do nitrato contendo ^{15}N , constatou-se baixa porcentagem de recuperação de nitrogênio na forma de amônio no momento da aplicação do nitrogênio, ocasião em que foram recuperados 20% (43 mg kg^{-1}) e 15% (32 mg kg^{-1}) no solo com baixo e alto teor de carbono, respectivamente. Na 20ª semana de avaliação foram observados valores menores do que 1% ($2,15 \text{ mg kg}^{-1}$) para ambos os casos. Esses resultados comprovaram que a microbiota do solo imobilizou, na primeira semana, o nitrogênio fornecido na forma de nitrato e não mineralizou de volta para o solo, uma vez que o amônio nessas unidades experimentais mostrou menos de 1% de recuperação.

O esgotamento dos *pools* de nitrato e de amônio do solo também foi observado por Geisseler, Horwath e Doane (2009) e isto ocorreu devido à imobilização dessas formas de nitrogênio, que foi incrementada pela aplicação de material vegetal de trigo. Esses autores observaram que após a primeira semana o nitrogênio mineral começou a se acumular e na segunda semana as taxas de mineralização líquida foram similares aos tratamentos sem aplicação de material vegetal de trigo. As recuperações do $^{15}\text{NO}_3^-$ e do $^{15}\text{NH}_4^+$ apresentaram ampla variação (de 15 a 98% de recuperação), no momento da aplicação do nitrogênio, e essa variação pode ser atribuída à imobilização dessas formas de nitrogênio pela atividade microbiana, que em solos com mais elevado teor de carbono ocorreu com maior intensidade, além dos colóides do solo que podem reter o amônio. Resultados similares foram observados por Geisseler, Horwath e Doane (2009) e Geisseler, Joergensen e Ludwig (2012), que observaram retenção de 20 a 30% do nitrogênio aplicado na forma mineral e de aminoácidos, na primeira semana.

5.3.3 Frações do nitrogênio orgânico

Os teores de amônio, aminoácido, aminoaçúcar e nitrogênio total hidrolisados variaram durante todo período experimental em função da aplicação de formas de nitrogênio e adição de material vegetal de capim-marandu (Tabela 1). Para o amônio hidrolisado, as aplicações das formas de nitrogênio como nitrato e amônio proporcionaram os mais elevados teores tanto no solo que recebeu o material vegetal de capim-marandu, como naquele em que não foi aplicado o material vegetal. No entanto, os teores de amônio hidrolisado foram mais elevados (em média 52%) no solo que recebeu o material vegetal de capim-marandu. De modo geral, os teores de amônio hidrolisado diminuíram de forma linear com o passar do tempo do período de avaliação e sugere que houve a imobilização dessa fração nitrogenada, fato também documentado por Mulvaney et al. (2001).

Tabela 1 – Teores de nitrogênio hidrolisado nas formas de amônio, aminoácidos, aminoaçúcar e total em função da aplicação de formas de nitrogênio e adição ou não de material vegetal do capim-marandu, durante o período de avaliação de 20 semanas

Tratamentos/ Semanas	0	4	12	20	Efeito
Amônio (mg kg⁻¹)					
Zero N	44 (3,5) [#]	38 (3,0)	22 (1,8)	21 (1,7)	LIN*
NO₃	77 (6,2)	61 (4,9)	49 (3,9)	44 (3,5)	LIN*
NH₄	90 (7,2)	81 (6,5)	76 (6,1)	59 (4,7)	LIN**
ZeroN+R	57 (4,6)	49 (3,9)	41 (3,3)	39 (3,1)	LIN**
NO₃+R	181 (14,5)	166 (13,3)	145 (11,6)	141 (11,3)	ns
NH₄+R	198 (15,8)	181 (14,5)	151 (12,1)	122 (9,8)	LIN**
Aminoácidos (mg kg⁻¹)					
Zero N	152 (13,7)	144 (13,0)	148 (13,3)	159 (14,3)	ns
NO₃	256 (23,0)	255 (23,0)	232 (20,9)	230 (20,7)	ns
NH₄	354 (31,9)	364 (32,8)	360 (32,4)	330 (29,7)	ns
ZeroN+R	211 (19,0)	163 (14,7)	126 (11,3)	95 (8,6)	LIN**
NO₃+R	356 (32,6)	277 (24,9)	211 (19,0)	166 (14,9)	LIN**
NH₄+R	492 (44,3)	379 (34,1)	290 (26,1)	225 (20,3)	LIN*
Aminoaçúcar (mg kg⁻¹)					
Zero N	77 (5,0)	85 (5,5)	104 (6,8)	115 (7,5)	LIN**
NO₃	71 (4,6)	84 (5,5)	93 (6,0)	102 (6,6)	ns
NH₄	100 (6,5)	118 (7,7)	129 (8,4)	143 (9,3)	LIN**
ZeroN+R	89 (5,8)	101 (6,6)	121 (7,9)	125 (8,1)	ns
NO₃+R	115 (7,5)	136 (8,8)	156 (10,1)	178 (11,6)	LIN**
NH₄+R	162 (10,5)	201 (13,1)	276 (17,9)	332 (21,6)	LIN**
Nitrogênio total (mg kg⁻¹)					
Zero N	285 (14,5)	267 (13,6)	271 (13,8)	291 (14,8)	ns
NO₃	423 (13,1)	398 (12,3)	374 (11,6)	376 (11,7)	ns
NH₄	545 (6,5)	550 (6,6)	545 (6,5)	513 (6,2)	ns
ZeroN+R	343 (17,5)	303 (15,5)	278 (14,2)	245 (12,5)	LIN*
NO₃+R	682 (41,6)	569 (34,7)	499 (30,4)	465 (28,4)	LIN**
NH₄+R	888 (9,8)	752 (8,3)	722 (7,9)	655 (7,2)	LIN**

- Valores entre parêntesis representam a diferença mínima significativa. * - Significativo a 5%. ** - Significativo a 1%. LIN - Efeito linear. ns – não significativo.

No caso do teor de aminoácido no solo foi observada diferença entre a não aplicação de nitrogênio e o fornecimento de nitrato ou amônio. A aplicação de amônio resultou em maior teor de aminoácidos do que o nitrato no solo. Para as aplicações na forma de nitrato e amônio não foi observada variação dos teores de aminoácidos em função do período de avaliação (Tabela 1). Quando o material vegetal de capim-marandu foi aplicado no solo, os teores de aminoácidos diminuíram de forma linear com o progredir do período de avaliação e, em média, a aplicação de nitrogênio na forma de amônio incrementou em cerca de 30% os teores de aminoácido no solo, quando comparada à aplicação de nitrato. Esse resultado pode indicar que a fração aminoácido foi assimilada pela microbiota do solo, uma vez que o mais elevado teor de carbono seguramente favoreceu a imobilização do nitrogênio no solo. No entanto, Mulvaney et al. (2001) concluíram que a fração aminoácido é mais recalcitrante que a fração aminoaçúcar, uma vez que os teores de aminoácidos não foram alterados pelas constantes lixiviações utilizadas para remover as frações de nitrogênio das amostras incubadas e, dessa forma, evitando a imobilização. A diferença entre os resultados pode ser explicada, pelo menos em parte, pelos solos utilizados nos experimentos, já que a constatação realizada por Mulvaney et al. (2001) foi em *Molisol* e *Alfisol*.

O teor de aminoaçúcar no solo não foi diferente entre a não aplicação de nitrogênio e a aplicação de nitrato. No entanto, quando o amônio foi aplicado foram observados teores mais elevados de aminoaçúcar (Tabela 1). A adição de material vegetal de capim-marandu incrementou os teores de aminoaçúcar, uma vez que a microbiota estava, provavelmente, mais ativa e em mais elevado número, pois o aminoaçúcar é produto da atividade e morte dos microrganismos. A aplicação de nitrato proporcionou teor de aminoaçúcar diferente da não aplicação de nitrogênio e novamente a aplicação de nitrogênio na forma de amônio incrementou os teores de aminoaçúcar. Constatou-se ainda que os teores de aminoaçúcar foram incrementados à medida em que avançou o período de avaliação. Com o avanço do período de avaliação, seguramente, a atividade microbiana no solo foi incrementada resultando em mais elevado acúmulo de aminoaçúcar no solo, conforme a mineralização ocorria.

Os teores de nitrogênio total hidrolisado apresentaram valores semelhantes à soma das frações amônio, aminoácido e aminoaçúcar (Tabela 1). A não aplicação de nitrato ou amônio proporcionou os mais baixos teores totais de nitrogênio hidrolisado, o que também ocorreu com as demais frações. A aplicação de nitrato ou amônio ao solo resultou em incremento no teor de nitrogênio total hidrolisado. Quando o material vegetal de capim-marandu foi adicionado constatou-se incremento nos teores de nitrogênio total hidrolisado, em especial no

solo que recebeu aplicação de nitrato ou amônio. Os teores de nitrogênio total hidrolisado diminuiram linearmente com o passar do tempo de avaliação.

Os teores de aminoácúcar têm sido reconhecidos como indicadores confiáveis da resposta das plantas à adubação nitrogenada, uma vez essa fração de nitrogênio é muito lábil (MULVANEY; KHAN, 2001). Mulvaney, Khan e Ellsworth (2006) desenvolveram um método para comparar a distribuição de frações de nitrogênio em solos que diferiram quanto à resposta do milho (*Zea mays*) à adubação nitrogenada. Os resultados desse trabalho com milho mostraram que solo com mais elevados teores de nitrogênio na forma de aminoácúcar foram não responsivos a adubação nitrogenada, enquanto que solos com mais baixos teores de nitrogênio na forma de aminoácúcar foram responsivos à adubação nitrogenada. Os teores de aminoácúcar podem ainda ser indicadores de mudanças na comunidade microbiana e, conseqüentemente, de mudanças ambientais (GLASER; TURRIÓN e ALEF, 2004; LIANG; FUJINUMA e BALSER, 2008). Os teores de aminoácido excederam os de amônio hidrolisado ou de aminoácúcar e se correlacionaram mais fortemente com carbono orgânico total ($r = 0,87^{**}$) e nitrogênio hidrolisado total ($r = 0,86^{**}$), quando comparados com a fração aminoácúcar ($r = 0,69^*$ e $0,72^*$). Segundo Mulvaney et al. (2001), isso sugere que o aminoácúcar e os aminoácidos diferem quanto à assimilação pelos microrganismos e, conseqüentemente, podem ser imobilizados.

Os resultados do presente experimento permitem inferir que a aplicação das formas de nitrato e amônio aumentou a disponibilidade do nitrogênio do solo e também conservou o nitrogênio aplicado por meio da passagem do nitrogênio da fração orgânica para a fração mineral e vice-versa, sendo esse último processo possibilitado pela adição de carbono no sistema. A imobilização/mineralização ocorre no solo e, portanto, existe contínua transferência do nitrogênio entre os compartimentos orgânico e mineral. Esse fenômeno é conhecido como *mineralization-immobilization turnover* (MIT) ou rota indireta (GEISSELER et al., 2010).

5.3.4 Carbono orgânico

O teor de carbono no solo variou em função da aplicação de nitrogênio e adição de material vegetal de capim-marandu nos períodos avaliados (Figura 4). Na semana inicial os teores de carbono no solo não diferiram entre a aplicação de nitrogênio ou não, no caso da não aplicação de material vegetal de capim-marandu. Quando foi aplicado esse material vegetal, na semana inicial, o teor de carbono foi cerca de 50% maior do que quando não se aplicou o material vegetal, porém não houve diferença para o fornecimento ou não de nitrogênio.

Figura 4 – Teor de carbono total no solo, em função da aplicação de formas de nitrogênio e adição ou não de material vegetal do capim-marandu, durante o período de avaliação de 20 semanas. As barras verticais indicam o erro padrão da média entre os tratamentos, dentro de cada período de avaliação, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Na quarta semana e avaliação foi verificada diferença entre a aplicação ou não de nitrogênio e material vegetal de capim-marandu, com teores de carbono variando de 4 a 17 g kg^{-1} , da não aplicação de material vegetal de capim-marandu para o fornecimento de nitrogênio junto com o material vegetal. Na 12ª semana os teores de carbono não se diferenciaram entre a aplicação ou não de nitrogênio com ou sem adição de material vegetal, com teores de carbono variando de 5,0 e 13,5 g kg^{-1} , para a não aplicação de nitrogênio combinado e a aplicação de nitrogênio e material vegetal, respectivamente. Na 20ª semana foram observados teores de carbono similares à semana inicial, uma vez que os teores de carbono no solo não diferiram para a aplicação ou não de nitrogênio e para a aplicação ou não de nitrogênio combinada com a adição de material vegetal.

Geisseler, Joergensen e Ludwig (2012) encontraram valores de carbono orgânico do solo 54% mais elevados quando foi adicionada palha de trigo em um Neossolo, na semana inicial de incubação. Na 5ª semana os teores de carbono representaram menos de 25% nos solos tratados com palha de trigo e ainda permaneceram mais elevados do que no controle. Geisseler, Horwath e Doane (2009), estudando a influência da disponibilidade do carbono e do nitrogênio nas estratégias de assimilação de nitrogênio pelos microrganismos, encontraram teores de carbono 40% mais elevados na semana inicial, no solo que recebeu palha de trigo do

que no solo não tratado com essa palha e relataram que a redução nos teores de carbono ocorreu devido à mais elevada atividade de proteases, nos solos tratados com palha de trigo. Esses resultados mostram que os teores de carbono diminuem com o avanço do período de avaliação o que está em acordo com o observado no presente experimento.

5.4 Conclusões

As formas de nitrato e de amônio aplicadas no solo sem material vegetal de capim-marandu ocasionaram mineralização do nitrogênio orgânico do solo, enquanto que as aplicadas em solo com material vegetal de capim-marandu foram imobilizadas. Os baixos teores de $^{15}\text{NH}_4^+$ no solo após a segunda semana permitiram concluir que todo amônio foi imobilizado pelos microrganismos do solo. A aplicação de amônio juntamente com material vegetal de capim-marandu resultou nos mais elevados teores de amônio, aminoácido, aminoaçúcar e nitrogênio total hidrolisados. Quando não houve aplicação de material vegetal de capim-marandu, para aplicação das formas nitrato e amônio, foram observados os mais baixos teores de amônio, aminoácido, aminoaçúcar e nitrogênio total hidrolisados.

Referências

- ÁGREN, G.I.; BOSATTA, E.; MAGILL, A.H. Combining theory and experiment to understand effects of inorganic nitrogen on litter decomposition. **Oecologia**, Berlin, v. 128, p. 94-98, 2001.
- AZAM, F.; LODHI, A.; ASHRAF, M. Interaction of N-labelled ammonium nitrogen with native soil nitrogen during incubation and growth of maize (*Zea mays* L.). **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 23, p. 473-477, 1991.
- AZAM, F.; SIMMONS, F.W.; MULVANEY, R.L. Mineralization of N from plant residues and its interaction with native soil nitrogen. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 1787-1792, 1993.
- BREMNER, J.M. Total nitrogen. 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: American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, 1996. pt. 3: Chemical methods. p. 1085 - 1121.
- BREMNER, J.M. Organic forms of nitrogen. In: BLACK, C.A. (Ed.) **Methods of soil analysis**. Madison, WI: ASA, 1965. p. 1238-1255 (Agronomy Monography, 9).
- BREMNER, J.M.; SHAW, K. Denitrification in soil: II. Methods of investigation. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 51, p. 22-39, 1958.

- BURGER, M.; JACKSON, L.E. Microbial immobilization of ammonium and nitrate in relation to ammonification and nitrification rates in organic and conventional cropping systems. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 35, p. 29-36, 2003.
- CABRERA, M.L.; KISSEL, D.E.; VIGIL, M.F. Nitrogen mineralization from organic residues: research opportunities. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 34, p. 75-79, 2005.
- DING, X.; ZHANG, X.; HE, H.; XIE, H. Dynamics of soil amino sugar pools during decomposition processes of corn residues as affected by inorganic N addition. **Journal of Soils and Sediments**, Oxford, v. 10, p. 758-766, 2010.
- EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 286p.
- FONTAINEA, S.; MARIOTTIB, A.; ABBADIEA, L. The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 35, p. 837-843, 2003.
- GEISSELER, D.; HORWATCH, W.R.; JOERGENSEN, R.G.; LUDWIG, B. Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms - A review. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, p. 2058-2067, 2010.
- GEISSELER, D.; HORWATH, W.R.; DOANE, T.A. Significance of organic nitrogen uptake from plant residues by soil microorganisms as affected by carbon and nitrogen availability. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 41, p. 1281-1288, 2009.
- GEISSELER, D.; JOERGENSEN, R.G.; LUDWIG, B. Temporal effect of straw addition on amino acid utilization by soil microorganisms. **European Journal of Soil Biology**, Montrouge, v. 53, p. 107-113, 2012.
- GLASER, B.; TURRIÓN, M.B.; ALEF, K. Amino sugars and muramic acid-biomarkers for soil microbial community structure analysis. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 36, p. 399-407, 2004.
- HENRIKSEN, T.M.; BRELAND, T.A. Nitrogen availability effects on carbon mineralization, fungal and bacterial growth, and enzyme activities during decomposition of wheat straw in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, p. 1121-1134, 1999.
- KHAN, S.A.; MULVANEY, R.L.; HOEFT, R.G. A simple soil test for detecting sites that are nonresponsive to nitrogen fertilization. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 1751-1760, 2001.
- KHAN, S.A.; MULVANEY, R.L.; MULVANEY, C.S. Accelerated diffusion methods for inorganic-nitrogen analysis of soil extracts and water. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 61, p. 936-942, 1997.
- KUZYAKOV, Y.; FRIEDEL, J.K.; STAHR, K. Review of mechanisms and quantification of priming effects. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, p. 1485-1498, 2000.

- LIANG, C.; FUJINUMA, R.; BALSER, T.C. Comparing PLFA and amino sugars for microbial analysis in an upper Michigan old growth forest. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 40, p. 2063-2065, 2008.
- LUXHØI, J.; BRUUN, S.; STENBERG, B.; BRELAND, T.A.; JENSEN, L.S. Prediction of gross and net nitrogen mineralization-immobilization-turnover from respiration. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 70, p. 1121-1128, 2009.
- MARZLUF, G.A. Genetic regulation of nitrogen metabolism in the fungi. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 61, p. 17-32, 1997.
- MEBIUS, L.J. A rapid method for the determination of organic carbon in soil. **Analysis Chemical Acta**, Madison, v. 22, p. 120-124, 1960.
- MERRICK, M.J.; EDWARDS, R.A. Nitrogen control in bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 59, p. 604-622, 1995.
- MULVANEY, R.L. Mass spectrometry. In: KNOWLES, R.; BLACKBURN, T.H. (Ed.) **Nitrogen isotope techniques**. San Diego, CA: Academic Press, 1993. p. 11-57.
- MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A. Diffusion methods to determine different forms of nitrogen in soil hydrolysates. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 1284-1292, 2001.
- MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A.; ELLSWORTH, T.R. Need for a soil-based approach in managing nitrogen fertilizers for profitable corn production. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 70, p. 172-182, 2006.
- MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A.; HOEFT, R.G.; BROWN, H.M. A soil organic nitrogen fraction that reduces the need for nitrogen fertilization. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 1164-1172, 2001.
- MULVANEY, R.L.; YAREMYCH, S.A.; KHAN, S.A.; SWIADER, J.M.; HORGAN, B.P. Use of diffusion to determine soil cation-exchange capacity by ammonium saturation. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 35, p. 51-67, 2004.
- OSBORNE, G.J. Chemical fractionation of soil nitrogen in six soils from Southern New South Wales. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 15, p. 159-165, 1977.
- RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, 2011. 420p.
- RAO, A.C.S.; SMITH, J.L.; PAPENDICK, R.I.; PARR, J.F. Influence of added nitrogen interactions in estimating recovery efficiency of labeled nitrogen. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 55, p. 1616-1621, 1991.
- RECOUS, S.; MARY, B.; FAURIE, G. Microbial immobilization of ammonium and nitrate in cultivated soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 22, p. 913-922, 1990.

SANDANAM, S.; KRISHNAPILLAI, S.; SABARATNAM, A. Nitrification of ammonium sulphate and urea in acid Red Yellow Podzolic tea soil in Sri Lanka in relation to soil fertility. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 49, p. 9-22, 1978.

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

SCHMIDT, E.L. Nitrification in soil. In. STEVENSON, F.J. (Ed.) **Nitrogen in agricultural soils**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 1982. p. 253-288. (Agronomy Series, 22).

SILVA, V.M.; TRIVELIN, P.C.O.; COLAÇO, W.; ENCARNAÇO, F.A.F.; CABEZAS, W.A.R.L. Mineralização/volatilização do nitrogênio da vinhaça-¹⁵N na presença ou não de ureia e de palha de cana-de-açúcar. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, p. 117-123, 1999.

STANFORD, F.; SMITH, S.J. Nitrogen mineralization potenciales of soil. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 36, p. 465-472, 1972.

STEVENSON, F.J. Nitrogen organic forms. In. SPARKS, D.L. (Ed.) **Methods of Soil Analysis**. Part 3: Chemical Methods. Madison, WI: Soil Science Society of America, 1996. p. 1185-1200. (SSSA Book Series 5).

WHITMORE, A.P. Modelling the release and loss of nitrogen after vegetable crops. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, Amsterdam, v. 44, p. 73-86, 1996.

WICKRAMASINGHE, K.N.; RODGERS, G.A.; JENKINSON, D.S. Nitrification in acid tea soils and a neutral grassland soil: effects of nitrification inhibitors and inorganic salts. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 17, p. 249-252, 1985.

6 CONCLUSÕES GERAIS

A interação formas de nitrogênio x doses de potássio mostrou significância para as variáveis número de perfilhos, número de folhas, produção de massa seca da parte aérea, concentrações de nitrogênio, potássio, nitrato, amônio e putrescina e para a atividade da enzima redutase do nitrato. O fornecimento de potássio maximizou os efeitos da adubação nitrogenada na produção de forragem do capim-marandu. O suprimento isolado de formas de nitrogênio proporcionou baixas produções de forragem e desequilíbrio nutricional no capim-marandu. A produção de massa seca de raízes foi afetada positivamente pelo fornecimento de formas de nitrogênio nitrato, nitrato+amônio e amídica e doses de potássio, separadamente. O comprimento total e a superfície total das raízes do capim foram incrementados pelas formas de nitrogênio nitrato+amônio e amídica.

As concentrações de putrescina, espermidina, espermina e prolina foram diminuídas com incremento das doses de potássio. Plantas supridas com amônio e as que não receberam aplicação de nitrogênio apresentaram as mais elevadas concentrações de putrescina, espermina, espermidina e prolina nas folhas diagnósticas do capim. A razão putrescina:(espermidina+espermina) foi mais baixa para as formas de nitrogênio nitrato, nitrato+amônio e amídica do que para o amônio e a não aplicação de nitrogênio, indicando mais elevada concentração de putrescina quando as plantas estão sob estresse. A adição de nitrato amenizou os efeitos deletérios do amônio nas células do capim-marandu, uma vez que foram observadas mais baixas concentrações de putrescina, espermidina, espermina e prolina. O coeficiente de correlação entre a produção de forragem e a concentração de putrescina foi de -0,91**.

A aplicação de nitrato ou amônio no solo, sem material vegetal de capim-marandu, resultou em mineralização do nitrogênio, enquanto que quando foram aplicadas em solo com material vegetal de capim-marandu observou-se imobilização. Os baixos teores de $^{15}\text{NH}_4^+$ no solo após duas semanas permitiram concluir que todo amônio foi imobilizado pelos microrganismos do solo. A aplicação de amônio juntamente com material vegetal de capim-marandu resultou nos mais elevados teores de amônio, aminoácido, aminoaçúcar e nitrogênio total hidrolisados. Quando não houve aplicação de material vegetal de capim-marandu, para aplicação das formas nitrato e amônio, foram observados os mais baixos teores de amônio, aminoácido, aminoaçúcar e nitrogênio total hidrolisados.