

**DINÂMICA DO NITROGÊNIO EM UM SOLO TERRA ROXA
ESTRUTURADA (TRE) TRATADO COM MATÉRIA ORGÂNICA
VEGETAL E SULFATO DE AMÔNIO ENRIQUECIDOS
COM O ISÓTOPO ^{15}N**

JOSÉ RENATO DE FREITAS

Orientador: DRA. ALAÍDES PUPPIN RUSCHEL

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Energia Nuclear na Agricultura.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Dezembro, 1984

À memória de
meu irmão

Aos meus pais, irmãos e familiares,
que sempre incentivaram
minhas atividades

À minha esposa Sueli,
que tem compartilhado dos meus passos
dentro de minha profissão

À minha filha Beatriz

D E D I C O

À Profa. Dra. *Alaides Puppin Ruschel*, pela orientação segura e eficiente do trabalho, e ao Dr. *Reinaldo Luiz Victória*, pela co-orientação e assistência nas análises de ^{15}N e discussão do trabalho,

agradeço com profunda gratidão.

AGRADECIMENTOS

- À força divina, por ter-me guiado, ter-me dado forças, inteligência e perseverança para superar todos os obstáculos e desafios que ocorreram durante o transcorrer do curso.
- Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, na pessoa de seu Diretor, Dr. Eneas Salati, pelas facilidades oferecidas, bem como o apoio e co laboração de todos os funcionários, tornando possível a realização deste trabalho.
- À Agência Internacional de Energia Atômica, através do Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento, na pessoa do Dr. Peter B. Vose, Diretor de Projetos e da Sra. Diva Athié, Assistente Administrativa, pelo apoio, compreensão e valorização da pesquisa executada.
- À Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), através do projeto "Fixação biológica de nitrogênio em cana-de-açúcar (nº 5/4/82/0550/00), a qual financiou a execução deste trabalho.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de pesquisa concedida.
- À Seção de Microbiologia do Solo do CENA, especialmente nas pessoas de Francisco Carlos Montrazzi, Mário Bizetto, Iraci Terezinha Castilho, Lúcia C. B. S. Bárbara e Indiara B. S. Oliveira, pela colaboração constante.
- Aos Professores e Colegas dos Cursos de Energia Nuclear na Agricultura e Solos e Nutrição de Plantas, pela amizade e colaboração.

- Ao Centro de Processamento de Dados (CPD) do CENA, nas pessoas do Dr. Ricardo B. Sgrillo, Ariovaldo M. Carvalho e Francisco C. Pellegrino, pelas análises estatísticas realizadas.
- À Biblioteca do CENA, especialmente nas pessoas de Janeti L. B. Moura, Marília Ribeiro Garcia, Pedrila F. Pellegrinotti e Lurdes F. Gandra.
- À Dra. Siu Mui Tsai Saito, pelas sugestões, críticas e colaborações oferecidas durante a execução deste trabalho.
- Ao amigo Paulo Marcos da Silva, pela inestimável colaboração nas análises de nitrogênio, críticas e sugestões.
- À Dra. Maria José A.M. Sampaio, pelo incentivo, apoio e amizade.
- Aos colegas Edilberto, Sônia, Lurdinha, Soninha, Eleonora, Rubens, Amália e Raffaella, pela amizade e companheirismo.
- A Benedito Herculano Davanzo, Cleusval Bissi e Celso de Aguiar, funcionários do CENA, pela amizade e colaboração no trabalho.
- E a todos que de um modo ou de outro colaboraram para que este trabalho fosse realizado.

ÍNDICE

	<u>Página</u>
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. O nitrogênio no solo	3
2.2. Ganhos de N pelo solo	5
2.2.1. Nitrogênio nas precipitações atmosféricas	5
2.2.2. Fixação biológica de N ₂	6
2.3. Perdas de N pelo solo	8
2.3.1. Lixiviação	8
2.3.2. Volatilização e perdas de N do solo	11
2.4. Amonificação e nitrificação no solo	15
2.5. Transformações da matéria orgânica	18
2.6. Fertilizante nitrogenado no solo	23
2.7. O isótopo ¹⁵ N	25
2.8. Metodologia da análise de nitrogênio	27
2.9. Discriminação isotópica do N no solo	29
3. MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1. Experimento	31
3.2. Construção da casa-de-vegetação	32
3.3. Solos	36
3.4. Produção da matéria orgânica marcada com ¹⁵ N	39
3.5. Incorporação da matéria orgânica e nutrientes ao solo ..	41
3.6. Análise do N-mineral e N-total	44
3.7. Carbono orgânico - relação C/N	48
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1. Teor de N no solo	49
4.2. Variação dos teores de ¹⁵ N no solo	57
4.3. Teor total de nitrogênio no solo	60
4.4. Influência das três profundidades nos teores de NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻ , N-total e umidade do solo	66
5. CONCLUSÕES	85
6. SUGESTÃO	87
7. LITERATURA CITADA	88
APÊNDICE	110

LISTA DE TABELAS

<u>Tabela</u>		<u>Página</u>
1	- Análise química do solo Terra Roxa Estruturada recém coletado e após ter sido corrigido e utilizado nos lisímetros	37
2	- Características físicas do solo Terra Roxa Estrutura da utilizado nos lisímetros	38
3	- Teores médios de amônio, nitrato e N-total (mg/kg solo) no solo que recebeu incorporação de 5,53 mg N/kg solo, sob forma de matéria orgânica marcada, matéria orgânica não enriquecida ou sulfato de amônio ^{15}N	50
4	- Umidade (%) do solo, durante as diferentes épocas de incubação do solo, determinada em estufa a 100°C nos três tratamentos (M0- ^{14}N , M0- ^{15}N e sulfato de amônia- ^{15}N). Os dados são médias de quatro repetições	52
5	- Percentagem de átomos de ^{15}N em excesso nas frações N-NH_4^+ , N-NO_3^- e N-total do solo, nos tratamentos com incorporação de matéria orgânica de milho enriquecida e $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, nas dez épocas de amostragem	55
6	- Teores médios (%) de carbono total, determinados no solo durante o período de incubação de 165 dias e relação C/N nos períodos correspondentes	56
7	- Percentagem (%) do nitrogênio proveniente do fertilizante (% Npf) e quantidade (mg) do nitrogênio proveniente do fertilizante (QNpf) nas frações Amônio, Nitrato e N-total da matéria orgânica- ^{15}N e do fertilizante $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, analisados em dez épocas de amos	

Tabela	Página
tragem (165 dias). Os dados correspondem a três profundidades com quatro repetições cada uma	62
8 - Teores (mg) calculados isotopicamente de nitrogênio: mineral ($\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$), orgânico e total (mineral + orgânico) e % de recuperação do N adicionado (16,57 kg N/ha) ao solo, nos tratamentos $\text{M}0\text{-}^{15}\text{N}$ e $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, durante 165 dias de incubação, distribuídos em dez épocas de amostragem	63
8A - Teores médios (mg) de N (mineral, orgânico e total) e % de recuperação do N adicionado ao solo, nos tratamentos $\text{M}0\text{-}^{15}\text{N}$ e sulfato de amônia- ^{15}N . Os dados são médias de dez períodos de amostragem x 12 repetições .	65
9 - Teor de NH_4^+ (ppm), em diferentes profundidades e em diferentes épocas de amostragem do solo	67
10 - Teor de NO_3^- (ppm), em diferentes profundidades e em diferentes épocas de amostragem do solo	69
11 - Variações nas concentrações de N-NH_4^+ e N-NO_3^- e percentagens do N _{pf} na solução do solo coletada na profundidade de 1,0 m, após 135 dias de incubação, referentes aos três tratamentos	71
12 - Teores de N-total (ppm), em diferentes profundidades e em diferentes épocas de amostragem no solo	73

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>	<u>Página</u>
1 - Casa-de-vegetação móvel sobre trilhos	33
2 - Parcela experimental construída de alvenaria, mostrando os tratamentos (matéria orgânica de milho normal e enriquecida com ^{15}N - 49% átomos de ^{15}N em excesso) e sulfato de amônio enriquecido com ^{15}N (10% átomos de ^{15}N em excesso) e detalhes de escoamento da água de drenagem com os tanques de deposição desta água	34
3 - Vista dos lisímetros e dos tensiômetros instalados a 20-50 e 70 cm de profundidade, observando-se ao fundo os depósitos para coleta do excesso de água	35
4 - Aspecto do processo de peneiragem com malha de $0,5\text{ cm}^2$, do solo utilizado na casa-de-vegetação móvel	40
5 - Betoneira utilizada na homogeneização dos 3000 kg de solo e nutrientes utilizados para preenchimento de cada lisímetro da casa-de-vegetação	43
6 - Detalhe do descarregamento do solo homogeneizado da betoneira para o lisímetro	45
7 - Teores de NH_4^+ , NO_3^- e N-total do solo com adição de matéria orgânica, incubado por 165 dias em sistema fechado de lisímetros ao ar livre	75
8 - Teores de NH_4^+ , NO_3^- e N-total do solo com adição de matéria orgânica enriquecida a 49% de átomos de ^{15}N em excesso, incubado por 165 dias em sistema fechado de lisímetro ao ar livre	76
9 - Teores de NH_4^+ , NO_3^- e N-total do solo com adição de N	

FiguraPágina

	sob forma de sulfato de amônia enriquecido a 10% de átomos de ^{15}N em excesso, incubado por 165 dias em sistema fechado de lisímetro ao ar livre	77
10	- Enriquecimento isotópico da fração NH_4^+ extraída do solo que recebeu adição de matéria orgânica enriquecida com ^{15}N (49% átomos em excesso), incubado por 165 dias em lisímetro ao ar livre	78
11	- Enriquecimento isotópico da fração NO_3^- extraída do solo que recebeu adição de matéria orgânica enriquecida com ^{15}N (49% átomos em excesso), incubado por 165 dias em lisímetro ao ar livre	79
12	- Enriquecimento isotópico do N-total do solo que recebeu adição de matéria orgânica enriquecida com ^{15}N (49% átomos em excesso), incubado por 165 dias em lisímetro ao ar livre	80
13	- Enriquecimento isotópico da fração NH_4^+ do solo que recebeu adição de sulfato de amônia enriquecido a 10% de átomos de ^{15}N em excesso, incubado por 165 dias em lisímetro ao ar livre	81
14	- Enriquecimento isotópico da fração NO_3^- do solo que recebeu adição de sulfato de amônia enriquecido a 10% de átomos de ^{15}N em excesso, incubado por 165 dias em lisímetro ao ar livre	82
15	- Enriquecimento isotópico do N-total do solo que recebeu adição de sulfato de amônia enriquecido a 10% de átomos de ^{15}N em excesso, incubado por 165 dias em lisímetro ao ar livre	83
16	- Variações na umidade (%) do solo dos lisímetros e na temperatura ($^{\circ}\text{C}$) ambiente observadas ao longo dos 165 dias, ocorridas na casa-de-vegetação móvel, onde localizou os lisímetros utilizados no experimento	84

DINÂMICA DO NITROGÊNIO EM UM SOLO TERRA ROXA ESTRUTURADA (TRE) TRATADO COM
MATÉRIA ORGÂNICA VEGETAL E SULFATO DE AMÔNIO
ENRIQUECIDOS COM O ISÓTOPO ^{15}N

José Renato de Freitas

Alaídes Puppim Ruschel
Orientador

RESUMO

Com o objetivo de marcar o nitrogênio do solo, conduziu-se um experimento em 12 lisímetros com capacidade de 3,0 t do solo Terra Roxa Estruturada cada um com quatro repetições, ao ar livre, casualizados sob cobertura móvel e umidade controlada. No solo foram incorporadas três fontes de N, na dose de 5,53 mg N/kg de solo, sob forma de matéria orgânica vegetal de milho, natural (^{14}N) e matéria orgânica vegetal de milho e sulfato de amônia, sendo estes dois últimos enriquecidos respectivamente com 49 e 10% de átomos de ^{15}N em excesso. O solo foi amostrado a cada 15 dias (10 amostragens no período de 165 dias), desde o tempo inicial, a três profundidades (0-30, 30-60 e 60-90 cm). Foram feitas análises de N nas frações NH_4^+ , NO_3^- , N-total, C (%) e U (%), bem como o enriquecimento

isotópico de ^{15}N das diferentes frações do N no solo dos tratamentos que receberam o isótopo ^{15}N . Observou-se que houve uma marcação do N do solo em ambos os tratamentos que receberam ^{15}N (orgânico ou mineral). A fração N-NO_3^- ficou marcada com o isótopo ^{15}N em nível mais elevado que a fração N-NH_4^+ em ambos os tratamentos que receberam o isótopo ^{15}N . Quarenta e cinco dias após a incorporação do ^{15}N ao solo, nos diferentes tratamentos, o nível de marcação já se estabilizava nas diferentes frações do N do solo, permanecendo estável até o final do experimento.

DYNAMICS OF NITROGEN IN AN OXIC PALEUDALF ("TERRA ROXA ESTRUTURADA") SOIL
WITH THE INCORPORATION OF ^{15}N -TAGGED ORGANIC NITROGEN (MAIZE STRAW)
AND ^{15}N -TAGGED MINERAL NITROGEN (AMMONIUM SULPHATE)

José Renato de Freitas

Alaídes Puppim Ruschel
Adviser

SUMMARY

With the objective of labelling soil organic N an experiment was carried out under field conditions in 12 lysimeters, each containing 3.0 ton of Oxic Paleudalf soil ("Terra Roxa Estruturada") with four replicates. The lysimeters were randomized, protected by a mobile greenhouse which moved over the lysimeters during rain. The soil moisture was controlled at 40% of field capacity. Nitrogen (5.53 mg/kg soil) was incorporated into soil as maize straw, non-labelled and labelled with ^{15}N and ammonium sulphate- ^{15}N , both enriched with 49 and 10% atom ^{15}N excess, respectively. The soil was sampled every 15 days (10 samplings during 165 days) from the beginning of the experiment, in three different depths (0-30, 30-60 and 60-90 cm depth). N as NH_4^+ , NO_3^- , total-N, and

(%) C and (%) moisture was analysed and the isotope composition of the inorganic N released during incubation of the labelled soil was determined in the different N fractions of the soil. It was observed that the soil N was labelled in both treatments that received ^{15}N (organic or mineral). Labelling of the N-NO_3^- fraction with ^{15}N was higher than in the N-NH_4^+ fraction in both treatments with the addition of ^{15}N isotope. Forty-five days after ^{15}N incorporation into the soil it was observed in both treatments that there was an equilibrium in the labelling of the different fractions of soil-N, remaining stable up to the end of the experiment.

1. INTRODUÇÃO

O nitrogênio é um dos macronutrientes de essencial importância para o crescimento das plantas. Nas últimas décadas, ele tem sido considerado como elemento chave na tentativa de se aumentar a produção de alimentos para suprir a demanda causada pelo crescimento da população humana.

Sabe-se que o ciclo do nitrogênio no solo é um processo dinâmico e que está diretamente relacionado com a disponibilidade deste nutriente às plantas. A maioria destes processos são de origem microbológica e ocorrem simultaneamente em todos os ambientes, aeróbios e anaeróbios, sendo responsáveis pela imobilização, mineralização e desnitrificação. Embora a maior parte do N derivado destes processos no solo esteja na forma de compostos orgânicos complexos, recentes evidências mostram que compostos orgânicos (enriquecidos com ^{15}N) se adicionados ao solo podem ser incorporados em formas orgânicas estáveis em períodos muito curtos (CHICHESTER *et alii*, 1975). Desta forma, as quantidades do nitrogênio liberado a partir da matéria orgânica do solo pode ser determinada

se o N do solo possuir uma concentração conhecida do isótopo ^{15}N (NORMAN e WERKMAN, 1943).

Com a introdução de métodos isotópicos com ^{15}N por BURRIS e MILLER (1941) em estudos de fixação biológica de N atmosférico, muitas metodologias foram empregadas nestes estudos, porém, a maioria dos métodos que utilizam o ^{15}N requerem atmosferas confinadas, as quais tornam impossíveis sua aplicação a nível de campo. Nestes locais, porém, outros métodos são utilizados e envolvem a utilização de fertilizantes nitrogenados marcados com ^{15}N e a utilização de uma planta controle (que não tem capacidade de realizar simbiose). A proporção de nitrogênio derivado da fixação é determinada pela diluição do ^{15}N da planta em relação ao teor do ^{15}N da planta controle, assumindo-se que as duas plantas absorvam o N do solo na mesma composição isotópica (FRIED e MELLADO, 1977). O inconveniente desta metodologia está na escolha da planta controle (não fixadora), geralmente fisiologicamente diferente da planta estudada. Com a marcação do N do solo, este parâmetro seria eliminado, uma vez que este N seria evidenciado diretamente através da análise isotópica do N presente do solo (LEGG e SLOGER, 1975).

O presente trabalho teve como objetivo a marcação do N do solo, com a finalidade de se obter um solo enriquecido com ^{15}N para futuros estudos de metodologia aplicada à Fixação Biológica do Nitrogênio.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O Nitrogênio no Solo

O nitrogênio é um dos elementos mais abundantes na natureza, sendo encontrado nas quatro camadas constituintes da Terra, denominadas: litosfera, atmosfera, hidrosfera e biosfera. Sobre uma área de 1 ha encontram-se 242000 t de N, dos quais, 98% está localizado na litosfera (STEVENSON, 1982). Assim, devido a esta grande quantidade do nutriente, deduz-se que grandes jazidas de minerais nitrogenados sejam encontradas na Terra. Porém, isto não ocorre (DELWICHE, 1970; ALEXANDER, 1977).

Embora muitos compostos do nitrogênio, orgânicos e inorgânicos, sejam frequentemente encontrados no solo em quantidades pequenas, grandes depósitos de sais minerais nitrogenados são raros e ocorrem apenas em certas áreas localizadas em regiões áridas ou semi-áridas. A este fenômeno se atribui o fato da elevada solubilidade em água dos referidos sais, o que os torna sujeitos à lixiviação, impedindo assim a acumulação dos mesmos, exceto nas regiões onde a precipitação pluviométrica é bas-

tante baixa (MELLO *et alii*, 1983).

Segundo DELWICHE (1970), fontes naturais de N para as plantas são principalmente o fixado pelos microrganismos do solo e aqueles retidos nas rochas sedimentares. Essas fontes de fornecimento satisfizeram as necessidades das culturas para o consumo humano enquanto o mundo era pouco populoso. Com o aumento da população, o consumo de nitrogênio pelas plantas nas áreas cultivadas excedeu ao seu suprimento natural que era feito através da fixação do nitrogênio do ar pelos microrganismos. Os agricultores aprenderam a usar esterco e compostagem como adubo nitrogenado e a fazer retornar ao solo parte dos nutrientes absorvidos pelas plantas, incorporando os restos culturais. Estes meios de suprimento artificial de nitrogênio satisfizeram as exigências de N pelas plantas de interesse agrônômico até cerca de cem anos atrás, quando se verificou um rápido aumento na população da Europa. A situação imediata foi contornada com a descoberta do salitre-do-chile e também do guano, que foi introduzido na Europa como fertilizante por volta de 1840. No fim do século XIX, os pesquisadores começaram a se preocupar com as fontes de suprimento de nitrogênio, pesquisando meios para converter o N_2 do ar em compostos úteis como fonte de nitrogênio para as plantas. Foi assim que em 1913, HABER e BOSCH, dois cientistas alemães, descobriram um método de combinar o hidrogênio com o nitrogênio para formar amônia. Neste processo, o nitrogênio e o hidrogênio são reagidos na presença de um catalizador (geralmente níquel), à temperatura de $500^{\circ}C$ e altas pressões. O nitrogênio utilizado era obtido através da destilação do ar, enquanto que o hidrogênio era obtido do metano contido nos gases naturais. Entretanto, este processo nos dias de hoje está se tornando muito caro, em decor

rência de sua dependência do petróleo, fazendo com que as pesquisas na área da fixação biológica do nitrogênio pelas plantas que realizam simbiose com microrganismos fixadores de nitrogênio sejam amplamente desenvolvidas.

2.2. Ganhos de N pelo Solo

Diversos mecanismos têm sido propostos para caracterizar as adições de N ao solo em condições naturais, mas somente a fixação biológica de N_2 e a aquisição de NH_4^+ e NO_3^- nas precipitações atmosféricas são consideradas importantes para o ciclo de N no solo. A quantidade total do N atmosférico retornando à superfície da Terra tem sido estimada em 194×10^6 t/ano, das quais, 139×10^6 t são devidas à fixação biológica de N_2 (BURNS e HARDY, 1975; SODERLUNG e SVENSSON, 1976). Isto representa um retorno anual equivalente a 12,8 kg N/ha ou 9,2 kg/ha de N_2 fixado biologicamente. Os mesmos autores citam que nos oceanos 36×10^6 t de N são adicionados por ano.

2.2.1. Nitrogênio nas Precipitações Atmosféricas

O nitrogênio nas precipitações atmosféricas está, em sua maioria, nas formas de NH_4^+ , NO_3^- e NO_2^- . Embora as quantidades globais de N trazidas à superfície da Terra pareçam ser aparentemente altas para as plantas, isto pouco representa devido às quantidades adicionadas serem irrisórias para aumentar a produção agrícola (STEVENSON, 1982).

As descargas elétricas unem nitrogênio e oxigênio forman-

do óxidos que podem se decompor ou se unir à água e alcançar o solo por meio de chuva ou neve. A quantificação do N presente em águas de chuvas tem sido feita anualmente e em diversas regiões da Terra (GALBALLY e ROY, 1983). BOTTGER *et alii* (1978) realizaram uma série de medidas do N combinado e verificaram que há uma deposição do amônio sobre a superfície terrestre na ordem de $15 \pm 7 \times 10^6$ t de N/ano e sobre os oceanos os autores estimaram essa deposição como sendo $6 \pm 6 \times 10^6$ t N/ano. Estas medidas, porém, apresentam grandes variações quando são feitas em áreas diferentes. GALBALLY e WETSELAAR (1981) observaram variações nas concentrações e nas taxas de deposição do amônio muito altas para a região do Sudeste da Ásia.

LENHARD e GRAVENHORST (1980) observaram que, geralmente, o amônio encontrado nas águas das chuvas poderia vir de locais distantes de até 1000 km. A amônia volatilizada numa determinada região pode ser reabsorvida, porém, as frações convertidas em aerossóis, de acordo com DENMEAD *et alii* (1976), atingem distâncias maiores.

2.2.2. Fixação Biológica de N₂

Embora seja o nitrogênio um dos elementos que mais contribui para a constituição da atmosfera da Terra ($3,86 \times 10^{15}$ t), ele se apresenta como um gás inerte e dificilmente pode ser metabolizado diretamente pelas plantas superiores ou outras formas de vida animal. A molécula altamente estável de N₂ (N = N) só pode ser quebrada quimicamente à alta temperatura e pressão. No entanto, os microrganismos fixadores de N₂ conseguem realizar o processo de fixação em condições ambientais (BURNS e

HARDY, 1975; EVANS e BARBER, 1977; DELWICHE, 1981).

A quantidade do N retornado à Terra anualmente através da fixação biológica é da ordem de 175×10^6 t, das quais, aproximadamente 80×10^6 t são devidas às leguminosas noduladas cultivadas para grãos, pastagens e outros (HARDY e HOLSTEN, 1972).

Os processos bioquímicos da fixação de N_2 são responsáveis pela fertilidade de muitos solos. Mesmo com a expansão no uso de fertilizantes desde a segunda grande guerra, as leguminosas ainda são tidas como a maior fonte de N-fixado para a maioria dos solos (STEVENSON, 1982).

A fixação de N_2 global atribuída às associações *Rhizobium*-leguminosa, tem sido estimada como sendo da ordem de 140 kg N/ha.ano (EVANS e BARBER, 1977). As quantidades reais do N_2 fixado pelas leguminosas em condições de campo são muito difíceis de serem quantificadas, devido a muitos fatores que influenciam a fixação como, relações bactéria-hospedeiro, espécies de leguminosas, umidade do solo, pH e fatores nutricionais. A presença de N-combinado, particularmente NO_3^- diminui a fixação de N_2 (BURNS e HARDY, 1975; RUSCHEL e SAITO, 1977; GIBSON e PAGAN, 1977).

Além da fixação simbiótica de N_2 , existe ainda outra importante fonte de ganho de N para o solo. Trata-se da fixação não simbiótica ou associativa. Contribuições de 2 a 200 kg N/ha.ano foram encontradas por BURNS e HARDY (1975), medidas estas correspondentes a condições naturais. Da mesma forma, outros autores, como JENKINSON (1977) e

WITTY *et alii* (1976) encontraram uma fixação de 23 - 29 kg N/ha . ano, em trigo e 18 - 24 kg N/ha . ano fixado por algas azuladas, respectivamente.

2.3. Perdas de N pelo Solo

Grande parte das pesquisas do nitrogênio concentram-se em: métodos de aplicação, eficiência de utilização e perdas de N no solo. As quantidades de N adicionadas ao solo raramente são recuperadas pelas plantas em grandes quantidades, indicando que há uma grande perda de N no solo devido a processos como volatilização, lixiviação e desnitrificação (STEVENSON, 1982). Em experimentos utilizando fertilizantes enriquecidos com ^{15}N , MAKAROV e MAKAROV (1976) observaram uma razoável perda de N através da volatilização. A desnitrificação realizada pelas bactérias é a grande responsável por este processo (PAYNE, 1973; FOCHT e VERSTRAETE, 1977). Entretanto, outros mecanismos como volatilização da amônia e reações do nitrito no solo também contribuem para aumentar os déficits de N na maioria dos solos (BROADBENT e CLARK, 1965; ALLISON, 1966; FOCHT e VERSTRAETE, 1977).

2.3.1. Lixiviação

Segundo ALLISON (1973), FRISSEL e VAN VEEN (1981), a lixiviação é um dos processos mais importantes de perdas de N em solos utilizados para as plantas de interesse agrônômico e, conseqüentemente, atua diretamente sobre a disponibilidade de N no solo. O N é lixiviado prin-

principalmente na forma de nitrato, cujo movimento no solo está intimamente ligado à movimentação da água (NIELSEN *et alii*, 1982). Esta movimentação, entretanto, pode ser também ascendente, como cita BARTH OLOMEW (1971).

Grande parte das pesquisas sobre a lixiviação do N em solos atualmente tem sido dirigida à poluição dos aquíferos com NO_3^- (STREBEL *et alii*, 1975). Segundo STEWART (1970), esta poluição está ligada às chuvas que drenam o N-nitrato para as camadas mais inferiores da crosta terrestre.

YOUNGDAHL *et alii* (1980), avaliando a perda potencial da uréia ($\text{CO}(\text{}^{15}\text{NH}_2)_2$) de diferentes granulações, em solos de diferentes texturas, e com taxas de percolação de 0 - 20 mm/dia, determinaram que, nas taxas de moderada a alta percolação, especialmente em solos com CTC baixa, as perdas por lixiviação da uréia supergranulada pode ser total. Porém, em solo franco-limoso, a análise de ^{15}N revelou que a planta de arroz recuperou do fertilizante supergranulado mais de 63% com uma percolação de 4,4 mm/dia, e só 5% na taxa de 18,3 mm/dia. A perda com uréia supergranulada foi sempre maior quando comparada com granulações inferiores.

Amostragem e análise do material do solo abaixo da zona radicular de áreas de drenagem livre, tem sido usada em numerosos trabalhos para se medir as concentrações de N-NO_3^- e estimar as quantidades deste, lixiviado do perfil do solo. LIBARDI e REICHARDT (1978), ao estudar o destino da uréia - ^{15}N (120 kg N/ha), aplicado a uma cultura de feijão, encontraram que foram perdidos 6,72 kg/ha de nitrogênio durante o período da cultura. MEIRELLES *et alii* (1980), aplicando sulfato de amônio-

^{15}N (100 kg N/ha) em feijoeiro, observaram que as perdas por lixiviação foram observadas abaixo de 120 cm, em uma perda total de 15 kg/ha, sendo 1,35 kg de N proveniente do fertilizante.

REICHARDT *et alii* (1979), estudando a dinâmica do nitrogênio (80 kg N/ha) como sulfato de amônio marcado com ^{15}N aplicado a uma cultura de milho, encontraram que durante um período de 97 dias foram lixiviados aproximadamente 9,2 kg N/ha, sendo 0,4 kg N/ha do adubo, a uma profundidade limite de 120 cm.

Nos estudos para se avaliar as perdas por lixiviação, uma das dificuldades consiste em se definir a profundidade do solo, uma vez que em solos bem estruturados, as raízes podem penetrar e absorver os nutrientes a grandes profundidades. Por outro lado, devido à evidente perda de N-NO_3^- nos solos, especialmente dos trópicos úmidos, nos últimos anos tem se intensificado os estudos do controle químico da nitrificação dos adubos nitrogenados, visto que muitas plantas, como as gramíneas, produzem excreções radiculares que controlam a nitrificação (KORTE, 1980), ou ainda devido à presença de certos microrganismos do solo que conseguem utilizar amônia ou nitrato, por assimilação do nitrato e/ou redução do nitrato. A redução do nitrato, realizada sob condições anaeróbicas, utiliza como receptor final os elétrons deste ânion na respiração, sendo reduzido a nitrito, em algumas estirpes reduzido a N_2), N_2 ou amônio (NEYRA e VAN BERKUN, 1977; ESKEW *et alii*, 1977; MAGALHÃES *et alii*, 1978).

2.3.2. Volatilização e Perdas de N do Solo

a) Desnitrificação

A desnitrificação ou redução dissimilatória do nitrato ou nitrito é um processo biológico através do qual o N presente no solo retorna à atmosfera. Este processo tem sido amplamente pesquisado, dado a sua complexidade envolvendo uma das facetas mais incompreendidas da transformação do N do solo em condições de campo, tendo em vista os processos bioquímicos relacionados com os microrganismos do solo (FIRESTONE, 1982). FILLERY (1983) afirma que uma das maiores limitações para o entendimento das perdas atribuídas à desnitrificação no ciclo do N são os mecanismos alternativos das perdas gasosas existentes num ecossistema, especialmente a volatilização da NH_3 em solo (TERMAN, 1979), solos alagadiços (VLEK e CRASWELL, 1981) e perdas gasosas de N através das folhas (WETSELAAR e FARQUHAR, 1980). Segundo o mesmo autor, o conhecimento destes mecanismos é de vital importância para a realização de pesquisas que envolvam a desnitrificação no sistema solo-planta. RYDEN e ROLSTON (1983) afirmam que pouco se tem feito no campo relacionado à desnitrificação, devido às dificuldades encontradas para implantação de metodologia adequada em condições de campo e precisão das medidas obtidas.

Estimativas de perdas de N relacionadas à desnitrificação variam de acordo com vários autores, sendo de 0-70% do N aplicado (ROLSTON, 1976; KOWALENKO, 1978).

HAUCK (1981) cita em sua revisão sobre trabalhos realizados com auxílio do isótopo ^{15}N que existe um déficit no solo de N devido

ã desnitrificação da ordem de 25 a 30%. Outros autores, como RYDEN e LUND (1980), afirmam que em solos irrigados, esta perda de N atinge 95 a 233 kg N/ha . ano.

Diversos pesquisadores têm isolado e identificado diversos microrganismos pertencentes aos mais variados gêneros tidos como desnitrificadores no solo (PAYNE, 1973). Esses microrganismos, na sua maioria, utilizam o nitrato como receptor final de elétrons na cadeia respiratória.

PAYNE (1973) cita 15 gêneros diferentes de desnitrificantes. Mais tarde, FOCHT e VERSTRAETE (1977) incluíram mais alguns gêneros recém identificados, como sendo *Cytophaga*, *Flavobacterium*, *Propionobacterium* e *Vibrio*. Estes autores, porém, não incluíram em seus trabalhos as bactérias fixadoras de N₂ dos gêneros *Azospirillum* (NEYRA *et alii*, 1977; NEYRA e VAN BERKUN, 1977) e *Rhizobium* (RIGAUD *et alii*, 1973; DANIEL *et alii*, 1980). A tabela a seguir mostra os diferentes gêneros de bactérias tidas como desnitrificantes:

<i>Acinetobacter</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>Halobacterium</i>
<i>Gluconobacter</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Hyphomicrobium</i>
<i>Micrococcus</i>	<i>Moraxella</i>	<i>Paracoccus</i>
<i>Pseudomonas</i>	<i>Rhodopseudomonas</i>	<i>Azospirillum</i>
<i>Spirillum</i>	<i>Thiobacillus</i>	<i>Xanthomonas</i>
<i>Cytophaga</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>Vibrio</i>
<i>Propionobacterium</i>	<i>Rhizobium</i>	

Embora haja uma grande variedade de gêneros de microrganismos capazes de realizar a desnitrificação no solo, GAMBLE *et alii* (1977) observaram que a *Pseudomonas fluorescens* é a bactéria mais comumente encontrada em sucessivos isolamentos, de solos provenientes de diferentes regiões geográficas.

b) Volatilização da Amônia

O nitrogênio pode também ser perdido no solo através da volatilização da NH_3 . Um dos fatores que mais contribuem para este processo e atribuído a altas concentrações da própria amônia no solo; pH elevado e altas temperaturas. A capacidade de troca catiônica (CTC) do solo também influi no processo, uma vez que a CTC interfere na distribuição do íon NH_4^+ entre a solução do solo e a fase sólida do mesmo (MELLO *et alii*, 1983).

A uréia tem sido amplamente utilizada na cultura do arroz como fonte de nitrogênio. Entretanto, a volatilização da NH_3 , após a hidrólise da uréia, pode-se tornar um problema mais sério que as perdas atribuídas ao $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (PATRICK, 1982). Estas perdas de N, em geral, são maiores com o aumento do pH da água o que normalmente ocorre em condições naturais e por volta da metade do ciclo fotossintético das plantas, onde há uma diminuição do teor de CO_2 na coluna d'água devido à alta taxa de fotossíntese naquele período (PARK *et alii*, 1958; FRENEY *et alii*, 1983).

VLEK e CRASWELL (1979), trabalhando com fertilizantes nitrogenados em cultura de arroz em casa-de-vegetação, verificaram que

mais da metade da NH_3 produzida a partir da uréia foi perdida nas camadas inferiores do solo em apenas três semanas de incubação. A perda de N atribuída ao $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ foi somente 1/5 em relação às perdas pela uréia. Os mesmos resultados foram observados por MIKKELSEN *et alii* (1978), que, trabalhando em condições de campo com arroz irrigado, mediram perdas de 1/5 do N proveniente do $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ aplicados na superfície do solo, porém em pH em torno da neutralidade. Os autores atribuem a estas perdas de N ao pH elevado da água (acima de 9), altas temperaturas e baixa CTC dos solos estudados.

Segundo STEVENSON (1982), os fatores atribuídos à volatilização da amônia podem ser resumidos em quatro itens a seguir.

1) As perdas são de grande importância em solos alcalinos especialmente quando fertilizantes amoniacais são amplamente utilizados. Perdas mínimas são observadas quando o pH do solo está em torno de 6 a 7, porém, perdas consideráveis são observadas se o pH do solo aumenta.

2) As perdas são maiores em solos com baixa CTC. As argilas, bem como os húmus, absorvem NH_4^+ e inibem a volatilização.

3) As perdas aumentam com a temperatura e podem ser muito altas se os solos neutros ou alcalinos possuírem NH_4^+ livres na água do solo.

4) Certas perdas podem ser altas quando resíduos nitrogenados (compostos vegetais e animais) são decompostos na superfície do solo, pois além da formação da amônia (NH_3), há um aumento localizado no pH, resultado da formação da mesma.

De acordo com Terman (1979), as perdas de $N-NH_3$ são, praticamente eliminadas em solos ácidos quando se colocam os adubos nitrogenados a pelo menos 5 cm de profundidade. As aplicações em superfície correm um grande risco de perdas, especialmente em solos de baixa CTC, alto pH e baixa umidade. Nos solos alcalinos, a colocação do adubo abaixo da superfície, reduz, mas não elimina, as perdas do nitrogênio

2.4. Amonificação e Nitrificação no Solo

A amonificação compreende o processo através do qual compostos nitrogenados são transformados sob ação enzimática em NH_4^+ . Estes compostos no solo representam em sua maioria aminoácidos, açúcares aminados, purinas e pirimidinas (LADD e JACKSON, 1982; FRENEY *et alii*, 1983). A amônia é conhecida como sendo a forma lábil do nitrogênio na agricultura desde o século passado, atribuindo-se à mesma como a principal fonte de N para as plantas; porém, foi BOUSSINGAULT (1856) quem provou que outras fontes nitrogenadas também eram importantes.

Nos solos, os substratos que participam diretamente ou indiretamente nos processos da amonificação são de diferentes origens e localizam-se em diferentes microhabitats. Este processo é relativamente rápido. RODRIGUES (1983), trabalhando com aplicações de uréia no solo, verificou que logo após os primeiros dias de aplicação da uréia na camada superficial do solo, havia perdas de 83 a 91% de N atribuídas à amo-

nificação e posterior volatilização da amônia. Por outro lado, nas camadas mais internas, foi observado que 61 a 92% da uréia adicionada havia sido nitrificada em 9 semanas após ter sido aplicada.

A nitrificação pode ser definida como sendo a degradação biológica de amônia a nitrato, tendo como intermediário desta reação o íon nitrito (BREMNER e BLACKMER, 1981).

A decomposição de proteínas, ácidos nucleicos e compostos nitrogenados no solo promove a formação do NH_4^+ , o qual irá rapidamente ser oxidado até NO_3^- (SCHMIDT, 1982). A nitrificação ocorre indiscriminadamente em qualquer tipo de solo, desde que haja NH_4^+ presente, e que os fatores ambientais (temperatura, umidade, pH e aeração) sejam favoráveis (FOCHT e VERSTRAETE, 1977), porém, em solos muito úmidos e sob baixa temperatura, a nitrificação é praticamente nula.

O efeito da temperatura sobre o processo da nitrificação em solos tem sido encontrado como os mais adversos e os resultados variam muito de região para região (ANDERSON e BOSWELL, 1964; MAHENDRAPPA *et alii*, 1966; KENNEY e BREMNER, 1967; MYERS, 1975). O teor de umidade pode afetar invariavelmente a nitrificação na maioria dos solos. Mesmo para solos excessivamente enxarcados, quantidades suficientes de O_2 são supridas após o secamento do mesmo. No entanto, nos solos ressecados, a nitrificação depende dos mecanismos que regulam a pressão osmótica e textura do solo (RUSSEL, 1973).

Com relação ao efeito do pH sobre a nitrificação, há uma grande variabilidade nos resultados obtidos por diferentes autores, que

citam que, embora hajam valores de pH ótimos para a nitrificação entre 3,9 e 8,0, existe nos solos micro-habitats com pH entre 5,0 e 7,0, o qual seria o ideal para a população microbiana (MORRIL e DAWSON, 1967; SARATH-CHANDRA, 1978). KINJO *et alii* (1978) observaram que existe um efeito positivo entre a nitrificação com a correção da acidez do solo. Outros autores, como DANCER *et alii* (1973) e NYBORG e HOYT (1978), verificaram que a acidez do solo não afetava a amonificação, porém, a nitrificação era sensivelmente prejudicada.

KINJO *et alii* (1978) e CORNFIELD (1959), observaram que a nitrificação nos solos virgens geralmente é diminuída após terem desaparecidos os resíduos que são de mais fácil decomposição, porém, em solos cultivados, a nitrificação é intensa, devido ao número de microrganismos nitrificantes e à correção do pH. Foi observado ainda que a correção da acidez do solo favorece o acúmulo de NH_3 ; esta correção de acidez, se feita em solos virgens, favorece o desenvolvimento a microflora nitrificante, o que acarreta um aumento da nitrificação nestes solos, igualando-se aos cultivados (NYBORG e HOYT, 1978).

A maioria dos microrganismos responsáveis pelo processo da nitrificação em ecossistemas naturais são gram negativos, quimiosintetizantes, autotróficos, pertencentes à família *Nitrobacteriaceae*. Novas espécies, porém, foram incluídas na lista das bactérias nitrificantes recentemente (WATSON, 1974; HARMS *et alii*, 1976; KOOPS *et alii*, 1976). A tabela, a seguir, mostra os principais gêneros e espécies de bactérias nitrificantes.

Nitrosomonas europaea

Nitrospira briensis

Nitrosococcus nitrosus

Nitrosococcus oceanus

Nitrosococcus mobilis

Nitrococcus mobilis

Nitrosolobus multiformis

Nitrosovibrio tenuis

Nitrobacter winogradskyi

Nitrobacter agilis

Nitrospira gracilis

2.5. Transformações da Matéria Orgânica

A matéria orgânica do solo funciona como um reservatório de nutrientes, especialmente N. Segundo STEVENSON (1982), 90% do N das camadas superficiais terrestres estão sob forma de N orgânico. Assim sendo, as transformações de M.O. no solo promovem a liberação ou imobilização do N disponível para as plantas.

Muitos problemas práticos agrônômicos estão relacionados com a disponibilidade e recuperação do nitrogênio pelas diferentes espécies. As transformações que sofrem os compostos nitrogenados quando resíduos vegetais são adicionados ao solo são complexas, embora os princípios que regem estes fenômenos tenham sido estabelecidos.

Em 1943, NORMAN e WERKMAN preconizaram que cálculos precisos da quantidade de nitrogênio imobilizado por resíduos nitrogenados seriam obtidos através da adição de uma fonte enriquecida com ^{15}N -inorgânico

co, seguindo-se a distribuição do isótopo em intervalos. Estes autores concluíram que houve uma recuperação de 26,5% do N derivado da matéria orgânica de soja incorporada ao solo, após 11 semanas de incubação.

O processo mineralização de compostos nitrogenados no solo foi observado também por BROADBENT (1947). Em experimentos visando determinar a influência da sacarose e celulose no solo sobre a mineralização da matéria orgânica, o autor observou que adições de resíduos vegetais ricos de N (restos da cultura do trevo) promovia uma decomposição mais rápida de restos de caules de milho no solo, evidenciando uma liberação de nutrientes.

STANFORD *et alii* (1970) estudaram os efeitos de incorporações sucessivas de plantas de *Aveia sativa* em solo enriquecido com ^{15}N , sendo que toda matéria seca proveniente das quatro primeiras colheitas foram retornadas ao solo. Após a quinta colheita, analisou-se as diferentes partes das plantas e frações do solo. A distribuição do ^{15}N entre as diferentes frações do extrato do solo, solúveis e insolúveis em ácido, foram muito semelhantes, sugerindo assim que um fertilizante nitrogenado, quando adicionado ao solo, torna-se rapidamente parte dos complexos recém formados nos solos. Resultados semelhantes foram encontrados por LEGG *et alii* (1971), os quais, além de confirmar as premissas de STANFORD *et alii* (1970), notaram que o N adicionado ao solo sob forma mineral, era mais rapidamente incorporado às frações estáveis da matéria orgânica do solo, quando se incorporava a matéria orgânica (MO) seca das primeiras colheitas de aveia no solo. Em períodos prolongados, este processo permanecia estável.

Embora a maior parte do N do solo esteja sob forma de compostos orgânicos complexos, recentes evidências indicam que compostos inorgânicos marcados com ^{15}N possam ser incorporados em formas orgânicas estáveis em períodos muito curtos, geralmente 5 - 10 semanas (CHICHESTER *et alii*, 1975). Estes autores também observaram que a disponibilidade relativa do ^{15}N e do N orgânico do solo permanecia essencialmente constante durante longos períodos de mineralização. CHICHESTER (1970) observou por extrações químicas e fracionamento do N uma distribuição muito semelhante do ^{15}N recém incorporado sob forma orgânica ao solo, com aquele presente nas formas orgânicas novas, confirmando os resultados obtidos por STANFORD *et alii* (1970).

Com o objetivo de verificar a transformação de N orgânico (de leguminosas) no solo, PARSONS *et alii* (1975) incorporaram matéria seca de *Medicago* enriquecida com ^{15}N e seguiram a mineralização de N no solo por um período de 128 dias. Os autores observaram que no final deste período, 30 - 40% do ^{15}N , seja de raiz ou parte aérea, havia sido transformado em nitrato no solo. Após o período de incubação, nas frações mais leves ($d < 1,6$) da MO do solo, apenas 5% do ^{15}N foi encontrado; porém, nas frações mais pesadas da matéria orgânica ($1,6 < d < 2,0$), 25% do ^{15}N foi encontrado. O N na fração mineral aumentou levemente após o período de 128 dias, sendo que 30% do N adicionado estava presente.

VALLIS (1983), na tentativa de simular as adições naturais de matéria orgânica para pastagens e estudar a absorção de N pela gramínea (*Rhodes grass*) aplicou sobre a superfície de um solo matéria seca enriquecida com ^{15}N de duas espécies de leguminosas: siratro e des

módio com dois níveis de N. A percentagem de utilização do N pela gramínea foi seguida por três anos consecutivamente. Quando aplicada M.O. com baixo teor de N, a absorção de N-marcado pela gramínea foi maior no segundo que no primeiro ano, porém, quando a M.O. possuía alto teor de N (3,8%), no segundo e terceiro, ano a absorção caiu para 23 e 12% menos que no primeiro ano. Verifica-se que o teor de N da M.O. adicionada poderá afetar a mineralização deste mesmo elemento.

LADD *et alii* (1981), estudaram a decomposição de *Medicago* enriquecido com ^{14}C e ^{15}N , em quatro solos de diferentes texturas e teores de matéria orgânica, por um período de quatro anos. Inicialmente, as concentrações dos resíduos marcados caíram rapidamente, sendo posteriormente muito lenta. As taxas de decomposição nos solos mais argilosos foram significativamente menores que nos outros solos durante as primeiras 16 semanas, porém, depois deste período, as taxas se igualaram. Do total adicionado, 60 - 65% do ^{15}N do *Medicago* permaneceram como resíduos orgânicos após 32 semanas, tendo esta percentagem diminuído para 45 - 50% após quatro anos. As quantidades de biomassa marcada com ^{15}N formada através da decomposição da matéria seca, foi máxima entre 4 - 8 semanas de incubação dos solos, tendo sido esta diferente nos quatro tipos de solo. Os autores concluem ainda que as taxas de decomposição dos resíduos marcados não foram estatisticamente diferentes entre os solos durante o período de decomposição. Observa-se, portanto, que o tempo de residência da matéria orgânica adicionada foi bem grande, pois, após quatro anos ainda foi encontrada metade do ^{15}N adicionado, sob condições de campo.

SOLLINS *et alii* (1984) pesquisaram a taxa de mineralização líquida do N em frações leves e pesadas de matéria orgânica de solos orgânicos de florestas de zonas temperadas e tropicais. A maior parte da matéria orgânica presente nas frações mais leves era constituída de fragmentos de raízes parcialmente decompostos e microflora remanescente, ao passo que as frações mais pesadas da mesma estavam adsorvidas ou depositadas nas superfícies dos minerais de solo, sendo protegidas internamente aos microagregados organo-minerais do mesmo. A fração considerada mais leve possuía uma relação C/N mais larga que a fração mais pesada da matéria orgânica e a mineralização líquida durante o período de incubação anaeróbica foi maior nas frações pesadas em cinco dos seis solos estudados. Por outro lado, a mineralização líquida foi maior nas frações mais pesadas da matéria orgânica que nos solos como um todo. A este fato, os autores atribuem que o N é imobilizado nas frações mais leves à medida que este N é liberado pelas frações mais pesadas da matéria orgânica, quando as duas foram incubadas juntas, havendo diferenças entre o coeficiente de correlação e a relação C/N das duas frações. Os autores concluíram que a relação C/N não controla o teor de N mineralizado nas frações mais pesadas da matéria orgânica.

CHALK *et alii* (1983) marcaram a matéria orgânica de dois solos com o isótopo ^{15}N , através da incorporação de $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + celulose em pó e da gramínea *Lolium perene* enriquecida com ^{15}N . A composição isotópica do N inorgânico liberado durante o período de incubação dos solos marcados foi determinado e uma correlação positiva entre o N liberado nos potes de incubação com os teores deste N nas plantas cultivadas no mesmo tratamento foi observada. Os autores observaram que ocorreu uma

imobilização do N do solo quando foi adicionada celulose, havendo também uma correlação linear inversa entre a abundância do ^{15}N presente no N mineralizado e o teor de N mineralizado ($r = -0,992$), chamada de reversão. Esta reversão estaria ligada à resistência imposta pelo N marcado à mineralização devido, em parte, pela acumulação de frações resistentes do N microbiano e parte à formação através de processos não biológicos de compostos nitrogenados mais resistentes que o N microbiano a decomposição (BROADBENT e NAKASHIMA, 1965, 1967).

2.6. Fertilizante Nitrogenado no Solo

Estudos de transformações microbianas no solo foram seguidas sob condições de laboratório através da utilização de $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e acetato- ^{14}C por MCGILL *et alii* (1975). Uma alta população de fungos desenvolveu inicialmente até o quinto dia, decrescendo-se rapidamente, sendo reposta por uma população dominante de bactérias e actinomicetos. A decomposição desta população dominante resultou na transferência de C e N para diversas frações e sedimentos da matéria orgânica do solo. A fração orgânica (considerada como os componentes citoplasmáticos e os metabólitos adsorvidos extracelularmente) que se tornou marcada quando a população microbiana se desenvolveu, foi utilizada menos rapidamente pela população bacteriana em crescimento que os componentes de frações mais leves presentes no solo.

KOWALENKO (1981) verificou os efeitos da imobilização so-

bre as transformações e transporte do nitrogênio em condições de campo. Foram utilizados palha de aveia moída, glicose, $(^{15}\text{NH}_2)_2\text{SO}_4$ e $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$ como fontes de carbono e nitrogênio, respectivamente. Concluiu que o tratamento (palha x glicose ou $^{15}\text{NH}_4^+ \times ^{15}\text{NO}_3^-$) feito no solo influenciou os processos de mineralização e fixação de NH_4^+ nas argilas, acarretando assim em mudanças da retenção do N contra lixiviação e desnitrificação. Este efeito do N do solo foi citado por JANSON (1963), o qual verificou em pesquisas executadas durante seis anos em vasos, que a recuperação do N proveniente do fertilizante ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e NaNO_3) no solo variou de 86-92%, atribuindo às perdas de N restantes à desnitrificação. Entretanto, o autor observou que nenhuma perda foi observada após o nitrogênio aplicado ter sido transformado em substâncias orgânicas no solo. A disponibilidade do nitrogênio residual verdadeiro, ligado à matéria orgânica ou fixado nas frações da argila foi pequena, ficando em torno de 1% por ano da aplicação inicial.

Através da incorporação do sulfato de amônia enriquecido com ^{15}N ao solo em cultura de cana-de-açúcar crescida em lisímetros, TAKAHASHI (1968) observou que ao final do ciclo daquela cultura, havia uma grande recuperação do N adicionado quando a taxa de aplicação era de 50 kg N/ha. Porém, esta recuperação diminuiu sensivelmente quando se aplicou 100 kg N/ha. O autor também observou que grande parte do NH_4^+ , proveniente do $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, foi retida no solo devido à fixação pelas argilas e imobilização pelos microrganismos. Da mesma forma, RUSCHEL *et alii* (1978), usando sulfato de amônia enriquecido com ^{15}N , estudaram a eficiência de utilização deste fertilizante aplicado nas doses de 100 e 200 kg de N/ha pela cana-de-açúcar e encontraram que o N derivado do fer

tilizante (Ndf) era diferente nas diferentes partes da planta (37,8% nas folhas verdes, 31,6% nas folhas mortas e 22,2% nos colmos). Esses autores concluíram que as taxas de recuperações do Ndf eram drasticamente diminuídas quando se aumentava a dose de aplicação do N para 200 kg N/ha.

Diversas formas de fertilizantes nitrogenados têm sido propostas para usos como traçadores, em pesquisa. EDWARDS e HAUCK (1974) propuseram que pequenas partículas peletizadas fossem preparadas a partir de sulfato de amônia empobrecido de ^{15}N (0,031% átomos de ^{15}N). Este material, chamado de "composto esgotado em ^{15}N ", foi comparado com o $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ enriquecido com 0,734% átomos de ^{15}N em excesso, em potes contendo solo, nos quais mediu-se a recuperação do N através do plantio de uma gramínea (*Lolium multiflorum*). Após um período de 18 semanas e 5 amostragens, os autores observaram que as quantidades recuperadas de N foram iguais nos dois fertilizantes utilizados, usando dois espectrômetros de massa diferentes. Estes mesmos resultados foram encontrados por STARR *et alii* (1974), que realizaram o mesmo tipo de experimento, apenas retirando do $(^{14}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ a concentração natural de 0,3663% de átomos de ^{15}N por destilação criogênica. Neste trabalho, os autores usaram colunas de solo, nas quais foi cultivado a gramínea (*Lolium perene* L.).

2.7. O Isótopo ^{15}N

Dos seis isótopos do nitrogênio, somente aqueles de número de massa 14 e 15 são estáveis e ocorrem normalmente na natureza. Os

isótopos estáveis têm sido usados principalmente como traçadores nas pesquisas deste elemento na natureza (HAUCK e BREMNER, 1976).

Técnicas utilizando traçadores como isótopo ^{15}N têm sido largamente empregadas em laboratórios que pesquisam o nitrogênio em diferentes ecossistemas. O ^{15}N foi descoberto há aproximadamente meio século por NAUDÉ (1930) e métodos para sua obtenção e purificação foram iniciados por UREY *et alii* (1937), sendo que uma das primeiras aplicações práticas do ^{15}N em pesquisas agronômicas foram feitas por NORMAN e WERKMAN (1943), que verificaram a mineralização de matéria orgânica enriquecida com ^{15}N e sua disponibilidade para a cultura da soja.

A utilização do uso dos traçadores do N é baseada no fato de que o ^{14}N e o ^{15}N ocorrem naturalmente na maioria dos compostos e numa relação $^{14}\text{N}:^{15}\text{N}$ constante, sendo esta de $272 \pm 0,3 : 1$. O enriquecimento isotópico de ^{15}N nestes compostos é de $0,3663 \pm 0,0004\%$ de átomos de ^{15}N ou aproximadamente 3660 ppm de ^{15}N (JUNK e SVEC, 1958).

Uma concentração diferente da normalmente encontrada em compostos nitrogenados (0,366% de átomos de ^{15}N) indica que estes podem ser usados como traçadores, uma vez que sua composição isotópica é mensurável e diferente daquela do composto original. Adições de um composto com concentrações altas ou baixas de ^{15}N a um sistema irá resultar num aumento ou decréscimo na concentração do ^{15}N em todo o sistema. A extensão das mudanças dependem, porém, da quantidade do ^{15}N que foi incorporada. A natureza estável do ^{15}N permite que experimentos que envolvam seu uso sejam seguidos por períodos longos.

Em 1962, a Agência Internacional de Energia Atômica iniciou uma série de experimentos em oito países, nos quais fertilizantes nitrogenados marcados com ^{15}N foram aplicados em arroz (FAO/AIEA, 1970). Nestes experimentos, foram determinados parâmetros como: % nitrogênio total da parte aérea proveniente do fertilizante aplicado (% Ndff), Valor A (disponibilidade do fertilizante), eficiência de diferentes formas de fertilizantes nitrogenados e épocas de aplicação.

Nos últimos anos, trabalhos têm sido feitos no que se refere ao balanço do nitrogênio e principalmente às suas formas de aplicação. HAUCK (1971), analisando dados da literatura sobre recuperação de ^{15}N no solo, através de ensaios que analisaram quantitativamente o ^{15}N presente no solo, nas raízes e nas partes aéreas das plantas, observou que a disponibilidade do fertilizante nitrogenado é geralmente função do tipo do solo, espécies de plantas, regime das chuvas e quantidade e espécie do fertilizante. Estes mesmos fatores têm mostrados afetar a disponibilidade às plantas de diferentes formas de N quando métodos isotópicos são usados (ALLISON, 1966; LEGG, 1970; BARTHOLOMEW, 1971).

2.8. Metodologia da Análise de Nitrogênio

Os métodos mais comumente usados para análise de N em solos são aqueles denominados semi-micro com modificações do macro-Kjeldahl

descritas por BREMNER (1965) utilizadas para determinação do N-total nos solos, as quais incluem alguns procedimentos analíticos que permitem a recuperação do N-NH_4^+ , N-NO_3^- e N-NO_2^- (BREMNER e HAUCK, 1982).

Uma das mais expressivas mudanças na análise de Kjeldahl desde 1965 foi a melhoria do sistema de digestão das amostras, com o aparecimento dos blocos digestores de alumínio. SCHUMAN *et alii* (1973) e DOUGLAS *et alii* (1980) postularam as técnicas sobre sua utilização em digestão de solos envolvendo uma série de pré-tratamentos.

Grande parte do N do solo (especialmente subsolos) está sob forma de NH_4^+ presa nas argilas. Geralmente, esta fração é de difícil recuperação em análises de rotina de N, especialmente em subsolos (STEWART e PORTER, 1963; KEENEY e BREMNER, 1967; MEINTS e PETERSON, 1972). Porém, esta fração pode ser recuperada se na análise do N-total destes solos envolver um pré-tratamento da amostra como por exemplo adição de HF para destruir os minerais de argilas presentes antes da digestão de Kjeldahl (KEENEY e BREMNER, 1967).

Determinações de N-total feitas em solos pelo método da combustão de Dumas, mostraram que este método apresenta teores de N-total semelhantes aos determinados pelo método de Kjeldahl quando o solo analisado possuía características minerais, porém, o método de Dumas apresentou valores bem superiores de N-total quando o solo analisado era rico em matéria orgânica (BREMNER, 1965; MORRIS *et alii*, 1968). De acordo com STEWART *et alii* (1963, 1964), os altos valores obtidos pelo método de Dumas com os solos orgânicos foi devido à combustão incompleta, a qual resultou na formação de metano (CH_4), que foi medido juntamente com

o N_2 produzido pela combustão.

Os métodos de determinação de NH_4^+ , NO_2^- e NO_3^- propostos por BREMNER e KEENEY (1966), envolvem a extração da amostra de solo com KCl 2M e posterior análise do extrato por destilação a vapor, adicionando-se MgO e Liga de Devarda para liberação de NH_3 e redução do NO_2^- e NO_3^- a NH_3 , respectivamente. Esta metodologia tem sido usada extensivamente nos últimos 15 anos, devido à sua simplicidade de manuseio, rapidez e precisão, além de necessitar de apenas uma extração da amostra e ainda permite análises isotópicas das formas inorgânicas de N. Porém, a presença de fosfatos ou silicatos podem interferir na redução do NO_3^- a NH_3 pela Liga de Devarda (BREMNER e KEENEY, 1965; FRENEY, 1971). Este fato pode ser solucionado através do uso de $Fe(OH)_3$, ao invés da Liga de Devarda (BREMNER e BUNDY, 1973).

2.9. Discriminação Isotópica do N no Solo

O fracionamento isotópico do N acarreta em mudanças na composição isotópica deste elemento em compostos naturais incluindo solo, carvão, petróleo, minerais e proteínas de plantas e animais (HAUCK e BREMNER, 1976). Estas variações são decorrentes de efeitos isotópicos que ocorrem durante as transformações químicas e bioquímicas, como nitrificação (DELWICHE e STEYN, 1970) e a desnitrificação (WELLMAN *et alii*, 1968; BLACKMER e BREMNER, 1977). Os principais resultados destes efeitos isotópicos no solo são as mudanças que levam a um aumento dos teores médios de

^{15}N de suas frações quando comparadas com o N_2 atmosférico.

As variações naturais na abundância isotópica do N são expressas em análises em termos de átomos de ^{15}N por mil ou delta ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$). Geralmente este valor para a maioria dos solos é positivo, indicando que há um leve enriquecimento isotópico de ^{15}N . Porém, estes valores variam para locais, perfis e tipos de solos (MEINTS *et alii*, 1975; RENNIE *et alii*, 1976; SHEARER *et alii*, 1974; BROADBENT *et alii*, 1980). KANAZAWA e YONEYAMA (1978), trabalhando com diferentes tipos de solos, observaram que a abundância de ^{15}N dos aminoácidos presentes na fração hidrolisada do solo era bem maior que a aquela encontrada nos teores de N-total dos solos estudados.

Durante o processo da nitrificação do NH_4^+ , tem sido observado que os produtos finais NO_2^- e NO_3^- apresentam-se levemente empobrecidos de ^{15}N em relação aos substratos NH_4^+ , que aumenta levemente sua concentração de ^{15}N . No processo da desnitrificação do NO_3^- , há a formação do gás N_2 como produto final levemente empobrecido em ^{15}N , ao passo que o substrato NO_3^- tem aumentada a sua concentração de ^{15}N , mostrando que há uma preferência pelo ^{14}N em relação ao ^{15}N pelos microrganismos do solo (HAUCK e BREMNER, 1976). Assim, quando a nitrificação e a desnitrificação ocorrerem simultaneamente em um solo, o NO_3^- como produto da nitrificação terá baixo enriquecimento de ^{15}N , enquanto que o substrato para a desnitrificação se tornará enriquecido em ^{15}N , aumentando a composição isotópica dos compostos nitrogenados em relação ao N_2 atmosférico. A composição isotópica do N das frações orgânicas e inorgânicas do solo poderia sofrer alterações durante a assimilação do NH_4^+ pelos microrganismos heterotróficos ou através da absorção preferencial do ^{14}N e ^{15}N pelos complexos do solo (BREMNER e HAUCK, 1982).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Experimento

O experimento foi conduzido em condições de campo, sob cobertura de casa-de-vegetação móvel, localizada nas dependências do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo. A cobertura da casa-de-vegetação móvel foi mantida aberta durante o período experimental, sendo fechada somente por ocasião de chuvas.

Foram três os tratamentos utilizados:

Tratamento A: matéria orgânica marcada com ^{14}N (M.O. - ^{14}N);

Tratamento B: matéria orgânica marcada com ^{15}N , a 49% de átomos de ^{15}N em excesso (M.O. - ^{15}N);

Tratamento C: sulfato de amônia ($^{15}\text{NH}_4$)₂SO₄, marcado a 10% de átomos de ^{15}N em excesso (S.A. - ^{15}N).

Quatro repetições foram feitas, totalizando 12 lisímetros, os quais foram distribuídos inteiramente ao acaso no interior da casa-de-

vegetação móvel. A Figura 2 mostra a parcela experimental, com os detalhes de escoamento da água de drenagem e os tanques de deposição da água com os respectivos tratamentos correspondentes.

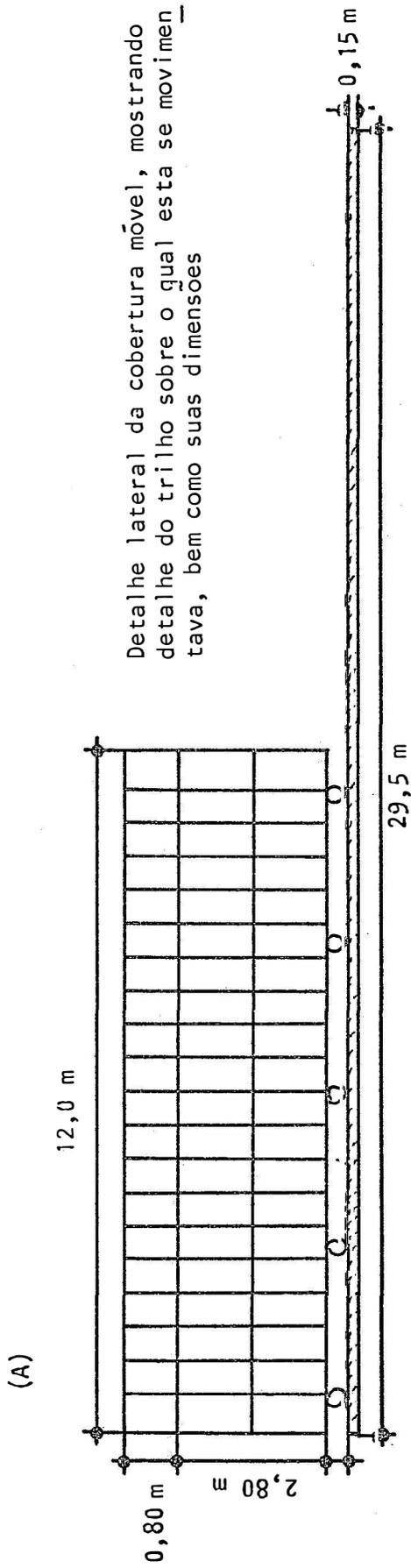
A umidade foi mantida constante, com auxílio de tensiômetros, instalados nas profundidades de 20, 50 e 70 cm no solo, onde diariamente era observada as variações na coluna de Hg sendo, então, adicionado água até que a posição da referida coluna voltasse em sua altura original (Figura 3).

3.2. Construção da casa-de-vegetação

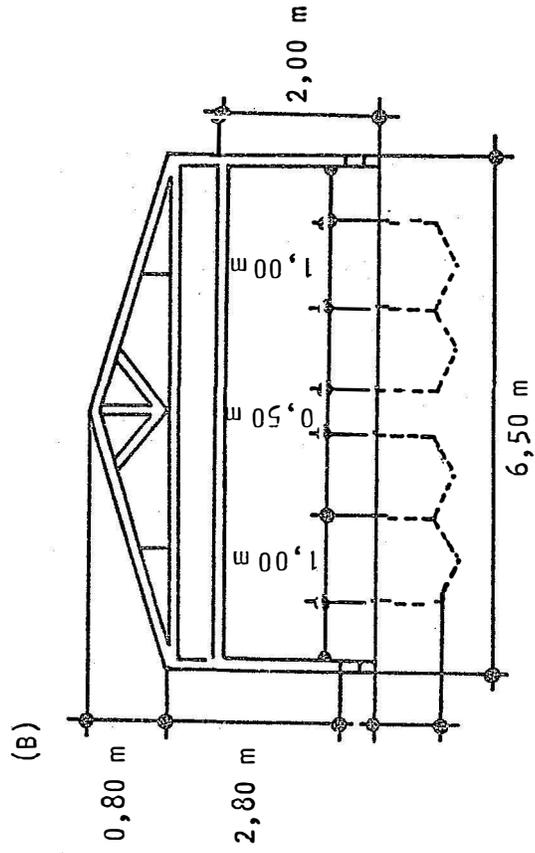
Foi necessário para esta pesquisa a construção de uma casa-de-vegetação móvel (Figura 1), que simulasse as condições ambientais semelhantes às aquelas do campo. As dimensões da mesma são as seguintes: 12 x 6 x 3 m. O galpão foi construído em barras de aço, revestido lateralmente com tela de nylon de fina abertura, sendo a cobertura feita com vidro transparente de 5 mm de espessura.

A área interna à casa-de-vegetação constituiu-se de duas partes:

- a) Parte correspondente ao local do experimento em si (Figura 2), construída em alvenaria, totalmente concretada com 12 recipientes (lisímetros), nas dimensões de 2,5 x 1,0 x 1,0 m, totalizando 2,5 m³ de volume interno cada um (Figura 3). Internamente a cada recipiente, apli-

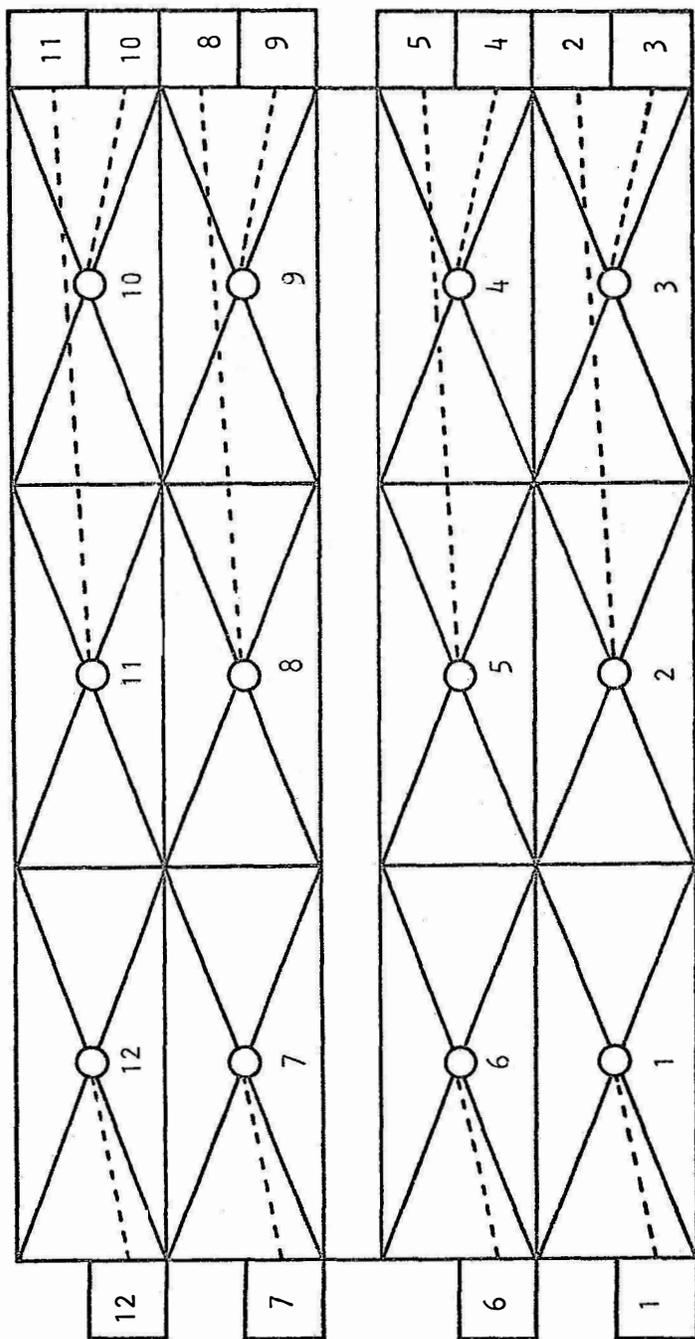


Detalhe lateral da cobertura móvel, mostrando detalhe do trilho sobre o qual esta se movimenta, bem como suas dimensões



Detalhe frontal da casa-de-vegetação, mostrando a cabeceira dos lisímetros, e localizados internamente à mesma, e detalhe da cobertura constituída de vidro transparente.

FIGURA 1 - Casa-de-vegetação móvel sobre trilhos. (A) Detalhe lateral, mostrando as parcelas experimentais que serão imbutidas no solo.



1 - 5 - 7 - 10: M0 - ^{14}N
 3 - 6 - 9 - 11: M0 - ^{15}N
 2 - 4 - 8 - 12: ^{15}N - fertilizante

FIGURA 2 - Parcela experimental construída de alvenaria, mostrando os tratamentos (matéria orgânica de milho normal e enriquecida com ^{15}N - 49% átomos de ^{15}N em excesso) e sulfato de amônio enriquecido com ^{15}N (10% átomos ^{15}N em excesso) e detalhes de escoamento da água de drenagem com os tanques de deposição desta água.

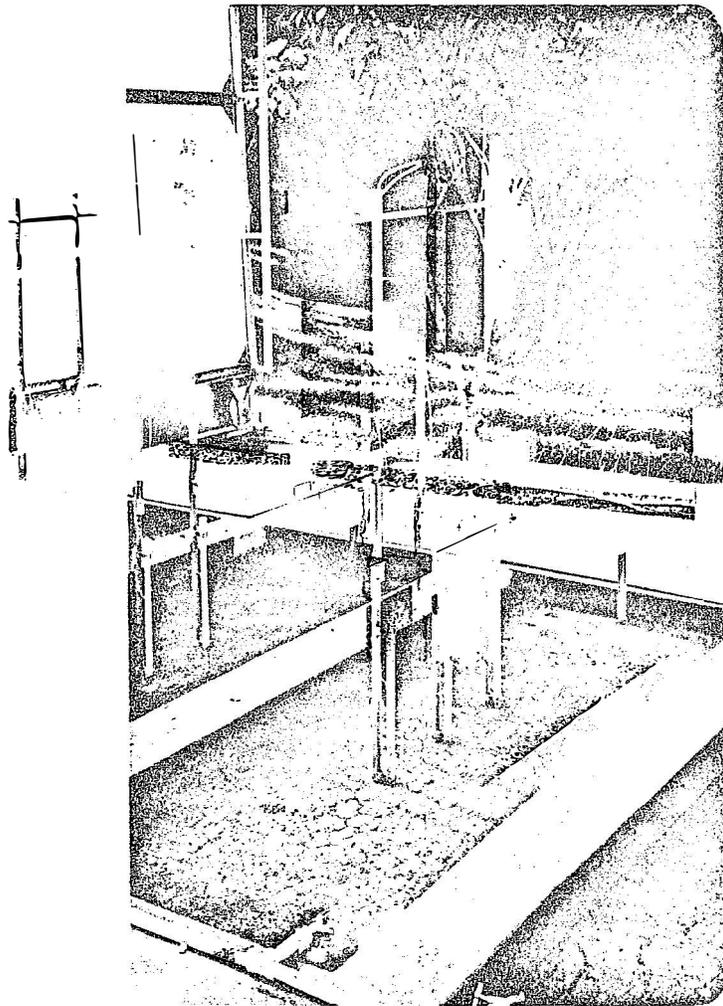


FIGURA 3 - Vista dos lisímetros e dos tensiômetros instalados a 20-50 e 70 cm de profundidade, observando-se ao fundo os depósitos para coleta do excesso de água.

cou-se uma camada de resina epoxi Duralmastic, com o objetivo de impermeabilizar as paredes internas, evitando assim, em caso de eventuais rachaduras, não houvesse contaminação entre os tratamentos.

- b) Parte correspondente à área de descanso da cobertura móvel: neste caso, a casa-de-vegetação permanece estacionada quando as condições climáticas assim permitirem. Este local constitui-se de uma área de 13 x 6 m, aterrada com solo e mantida livre de vegetação. Na construção, observou-se o sentido norte-sul da terra para locação da casa-de-vegetação, assim o sol cruza transversalmente a mesma.

3.3. Solos

O solo utilizado para o trabalho, foi classificado como Terra Roxa Estruturada (TRE) pela Comissão de Solos do Serviço Nacional de Pesquisa Agronômica - M.A. (1960). De acordo com RANZANI *et alii* (1966), este solo pertence à Série "Luiz de Queiroz", e pelo sistema americano de classificação (USDA, 1975), está dentro da ordem dos Alfisols, sendo um Paleudalf óxido. O local de coleta pertence à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", localizado a 540 m acima do nível do mar, 22°42'30" S e 47°38'00" W. A média anual de chuva é de 1247 mm, temperatura média anual de 20,8°C e umidade relativa de 69%. As análises químicas e físicas do solo são dados na Tabela 1 e 2.

Foram necessárias aproximadamente 60 t de solo. A área

TABELA 2 - Características físicas do solo Terra Roxa Estruturada utilizada nos lisímetros.

Densidade Global (g . cm ⁻³)	Textura (%)				Classificação Textural (*)
	A.G.	A.F.	Silte	Argila	
1,54	9,3	19,3	15,7	51,5	Argila

(*) Segundo a Sociedade Brasileira de Ciência do Solo.

escolhida possuía dimensões de 900 m^2 , sendo totalmente capinada e descartada a camada superior de aproximadamente 10 cm, retirando-se o solo entre 10 e 30 cm de profundidade.

Preparo do solo: O solo foi coletado no local previamente escolhido, com auxílio de retroescavadeira e trazido às dependências do CENA, sendo homogeneizado e após foi peneirado através de malha mecânica de $0,5 \text{ cm}^2$ para livrá-lo de impurezas (raízes) e eventuais pedras que pudessem estar contidas (Figura 4). Após a peneiragem, o solo foi armazenado para proteção contra chuva.

3.4. Produção da matéria orgânica marcada com ^{15}N

Concomitantemente ao preparo do solo, foi feita a produção da matéria orgânica, crescendo milho em 20 baldes de 20 litros cada, contendo solução nutritiva de Hoagland, cuja composição é a seguinte, em g/l: K_2PO_4 - 0,082; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,395; CaCl_2 - 0,066; $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - 0,138; micronutrientes^(*) - 0,4 ml; FeEDTA - 0,4 ml e também K^{15}NO_3 (50% átomos em excesso) - 0,404 g/l.

O nitrato de potássio marcado a 50% de átomos em excesso de ^{15}N foi obtido através da Agência Internacional de Energia Atômica, através do Projeto BRA/5/009.

(*) Composição em g/l: $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 1,81; H_3BO_3 - 1,86;
 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,22; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,08;
 H_2MoO_4 - 0,09; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,008

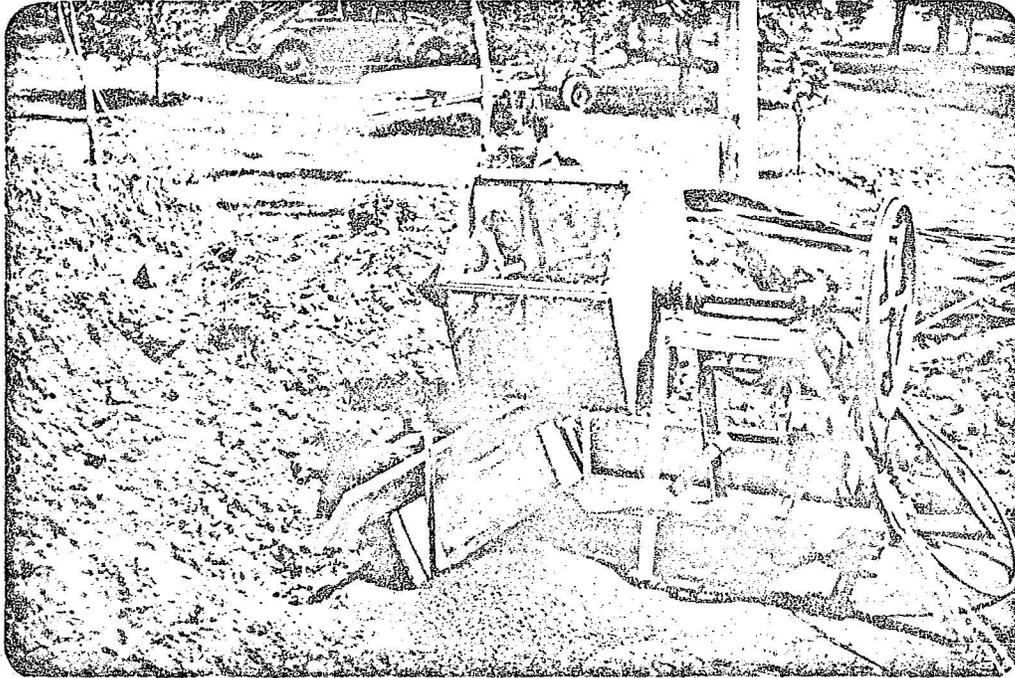


FIGURA 4 Aspecto do processo de peneiragem com malha de $0,5 \text{ cm}^2$, do solo utilizado na casa-de-vegetação móvel.

O milho (*Zea mays* L.), variedade ESALQ VF-1, foi cultivado até o início do pendoamento (30 dias de idade). Quatro plantios foram feitos na mesma solução nutritiva, contendo inicialmente 25% dos nutrientes de sua composição original. Após cada colheita, a solução nutritiva era complementada em 25%, totalizando 100% de sua concentração original no quarto plantio de milho. No período final de 120 dias, obteve-se uma produção final de matéria orgânica seca de 6,114 kg, marcada a 49% de átomos de ^{15}N em excesso, teor de N-total de 1,09% e de carbono total 79%, portanto, com relação C/N de 72,5.

Paralelamente ao cultivo do milho em solução nutritiva, plantou-se sob condições de campo a mesma variedade, para obtenção da matéria orgânica não enriquecida com ^{15}N e, no mesmo estágio de crescimento, as plantas de milho foram colhidas e analisadas, apresentando um teor de N-total de 1,71% e carbono total de 80% e relação C/N de 46,8.

3.5. Incorporação da matéria orgânica e nutrientes ao solo.

Nutrientes

Cada lisímetro continha 3,0 t de solo. A adubação foi feita com macro e micronutrientes: Fósforo: superfosfato simples, na dose

Nota: o nitrogênio foi utilizado somente no tratamento sem matéria orgânica. $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ marcado a 10% de átomos de ^{15}N em excesso foi aplicado na dose de 16,57 kg N/ha.

de 100 kg P/ha; Potássio: cloreto de potássio, 50 kgK/ha;
7H₂O - 150 mg/kg solo, Micronutrientes aplicou-se em mg/kg de solo:
CuSO₄.5H₂O - 150; NaMoO₄ - 7,0; ZnSO₄.7H₂O - 8,0; H₃B₃O₃ - 1,0; FeSO₄.
7H₂O - 20,0 e CoCl₂ - 0,2..

Matéria Orgânica

O material de milho obtido nos plantios sucessivos (M.O.) após secagem em estufa ventilada a 60°C (para prevenir perdas de N), foi posteriormente moído em moinho de 60 mesh, resultando num material de alta granulosidade. A incorporação da matéria orgânica ao solo baseou-se no N-total. No tratamento que levou matéria orgânica marcada com ¹⁵N foram incorporados 1,520 kg, ou 1,52 t de M.O./ha por lisímetro, correspondendo a um total de 16,57 kg N/ha, levando-se em consideração para cálculo uma camada de 0,2 m. No outro tratamento, que se refere à incorporação de matéria orgânica não marcada, adicionou-se 970,0 g de M.O. por lisímetro, correspondendo aos mesmos 16,57 kg N/ha, ou ainda, 0,97 t de M.O. por hectare.

Preenchimento dos Lisímetros

O volume de solo ocupado em cada lisímetro é de 2,5 m³. Isto origina um total de 3000 kg de solo. Para uma perfeita homogeneização de solo-nutrientes, utilizou-se uma betoneira com capacidade para 8000 kg. O solo foi medido em baldes de 22 litros, até alcançar a quantidade final desejada. Os nutrientes foram todos pesados separadamente e adicionados junto com o solo na betoneira (Figura 5). Cada lisímetro

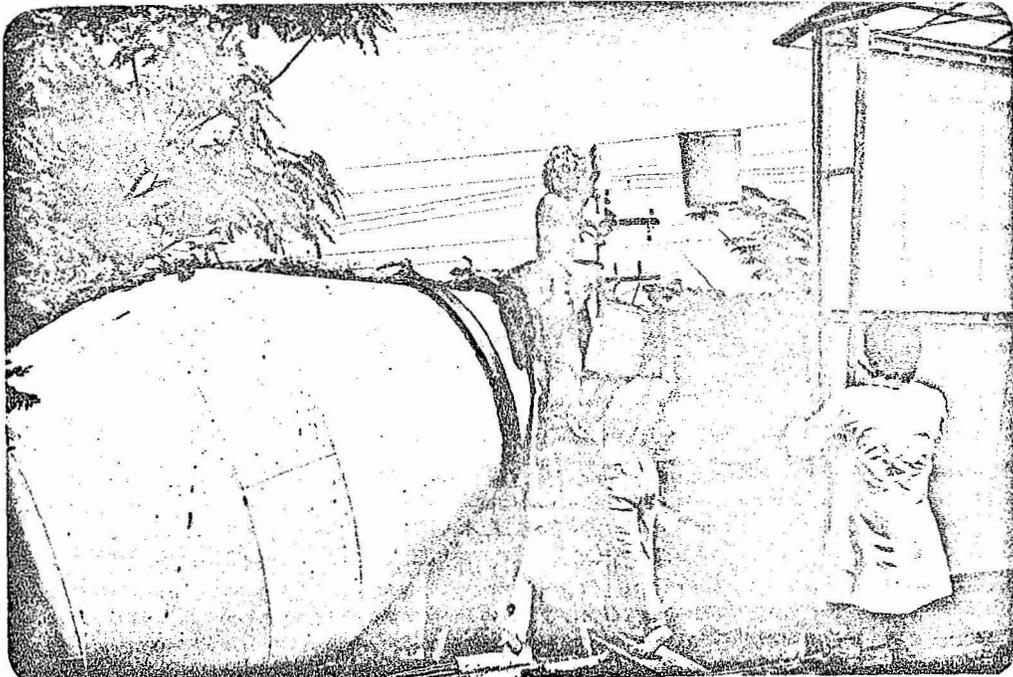


FIGURA 5 - Betoneira utilizada na homogeneização dos 3000 kg de solo e nutrientes utilizados para preenchimento de cada lisímetro da casa-de-vegetação.

recebeu 16,57 g de nitrogênio, seja de matéria orgânica, seja de sulfato de amônia.

Após a adição do solo e nutrientes, a betoneira permaneceu ligada por 15 minutos, até que todo o solo estivesse perfeitamente homogêneo. Após este período, o solo foi descarregado dentro dos lisímetros, com auxílio do mecanismo de descarga do sistema caminhão-betoneira (Figura 6). Este solo foi distribuído sobre uma camada de 10 cm de pedrisco, distribuída no fundo dos lisímetros, para facilitar a drenagem de um possível excesso de água que pudesse ocorrer durante o período experimental.

Após o término do preenchimento dos lisímetros, o solo foi umidecido com água até 40% de sua capacidade de campo, determinada anteriormente em laboratório.

Foram feitas 10 amostragens de solo para analisar os teores de N-NH_4^+ , N-NO_3^- e N-total (N-org, NH_4^+ , NO_3^- e NO_2^-). De 15 em 15 dias, após o preenchimento dos lisímetros, o solo foi coletado nos diferentes tratamentos, com auxílio de trado de rosca, a três profundidades, em três locais diferentes, originando três amostras compostas, nas profundidades de 0-30, 30-60 e 60-90 cm, representando cada camada 1000 kg de solo.



FIGURA 6 - Detalhe do descarregamento do solo homogeneizado da betoneira para o lisímetro.

a) Teores de NH_4^+ e NO_3^-

100 g do solo coletado foi pesado e adicionados 130 ml de KCl 2N, agitando-se por quatro horas em agitador rotativo. Imediatamente após este período, o solo foi centrifugado a 4000 x g por 15 minutos. O sobrenadante foi recolhido, anotado seu volume e destilado em destilador Kjeldahl na presença de MgO , para liberação da amônia e posteriormente Liga de Devarda para a redução do nitrato remanescente à amônia, de acordo com BREMNER (1965). O destilado foi recebido em ácido bórico, sendo titulado com H_2SO_4 0,01N e concentrado em estufa ventilada a 60°C para posterior análise de ^{15}N .

b) Teores de N-total

Uma alíquota do solo úmido foi tomada para determinação da umidade e posteriormente triturada até passar por peneira de 100 mesh sendo, então, analisado o teor de N-total, incluindo NH_4^+ , NO_3^- e NO_2^- . 1 g do solo seco em estufa foi pesado, adicionado KMnO_4 para oxidação do nitrito a nitrato. Após este passo, adicionou-se Fe-reduzido para redução do nitrato a amônia. Posteriormente, procedeu-se à digestão sulfúrica do solo, com misturas dos sais K_2SO_4 , CuSO_4 e selênio (100:10:1), sendo depois destilado em aparelho de Kjeldahl (semi-micro), com NaOH 20 N, recebido em ácido bórico e titulado com H_2SO_4 0,01N, de acordo com BREMNER (1965). Após a titulação, o destilado foi acidulado com três gotas de HCl 1N e concentrado em estufa ventilada a 60°C , para posterior análise de ^{15}N .

c) Determinação do ^{15}N nas frações do solo

As destilações provenientes das determinações de NH_4^+ , NO_3^- e N-total foram concentradas até aproximadamente 2 ml. A seguir, sobre este volume adicionou-se hipobromito de lítio, para oxidação da amônia a N_2 , o qual foi analisado quanto ao teor de ^{15}N , de acordo com BREMNER e EDWARDS (1965). As análises foram feitas em espectrômetro de massa VARIAN-MAT-230, da Seção de Ciências Ambientais do CENA. A percentagem de átomos de ^{15}N foi calculada pela expressão:

$$\text{Átomos } \% \text{ } ^{15}\text{N} = \frac{\text{Átomos } ^{15}\text{N}}{(\text{Átomos } ^{14}\text{N} + \text{Átomos } ^{15}\text{N})} \times 100 \quad (1)$$

O cálculo percentual do excesso de átomos de ^{15}N foi obtido subtraindo-se da percentagem de ^{15}N obtida nas amostras, equação (1), o valor da abundância natural do isótopo no ambiente, sendo 0,3663 ($\pm 0,004$) % de átomos de ^{15}N .

d) Determinação do N-derivado da matéria orgânica e fertilizante

O nitrogênio proveniente da matéria orgânica (NdMO) e do fertilizante (Ndf) foi calculado pelo enriquecimento isotópico de ^{15}N do solo, da matéria orgânica e do fertilizante sulfato de amônia adicionados ao solo, de acordo com o manual da IAEA (1983):

Fração do N derivado da matéria orgânica:

% ^{15}N em excesso (NH_4^+ , NO_3^- ou N-total) da amostra

% ^{15}N em excesso na M.O. (49% átomos de ^{15}N em excesso) (2)

$$\text{fNdMO} = \frac{\text{3}}{\text{-----}}$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Teor de N no solo

Na tabela 3 são apresentados teores (ppm) médios do amônio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) e N-total, nas três profundidades e analisados durante o período de amostragem (165 dias de incubação) em diferentes épocas e o teste de Tukey/tratamento.

A fração amônio nos três tratamentos, diferiram ($p = 0,01$) entre si quanto à quantidade liberada durante as diferentes épocas de amostragem. Embora as adições de N sob forma de palha de milho ou de sulfato de amônia no início do experimento tenham sido da mesma ordem, ou

TABELA 3 - Teores médios de amônio, nitrato e N-total (mg/kg solo) no solo que recebeu incorporação de 5,53 mg N/kg solo, sob forma de matéria orgânica marcada, matéria orgânica não enriquecida ou sulfato de amônio-¹⁵N.

Período de Incubação (dias)	Amônio (NH ₄ ⁺) (mg/kg solo)		Nitrato (NO ₃ ⁻) (mg/kg solo)		N-Total (org. e inorg.) (mg/kg solo)		Sulfato Amônio ¹⁵ N	
	MO - ¹⁴ N	MO - ¹⁵ N	MO - ¹⁴ N	MO - ¹⁵ N	MO - ¹⁴ N	MO - ¹⁵ N		
0	6,39a	5,13a	12,24a	8,55e	9,25e	994abc	998	986bcd
15	4,63b	5,50a	4,53b	8,55e	8,40e	996abc	998	959cd
30	1,49c	1,72b	1,90c	6,41e	11,27de	916c	1020	1055abc
45	1,45c	2,12b	1,69c	10,57cde	11,31de	1056a	1031	1098a
60	1,40c	1,36b	1,48c	16,55ab	22,69a	1034ab	992	933d
75	1,83c	1,78b	1,91c	13,22bcd	21,07ab	956bc	986	983bcd
90	1,09c	1,28b	1,43c	9,40de	10,44de	1047ab	1062	1068ab
105	1,39c	1,50b	1,42c	13,73abc	14,46cd	1032ab	1048	1041abc
135	1,37c	1,53b	1,62c	14,08abc	14,61cd	947bc	1002	1028abcd
165	1,03c	1,26b	1,34c	17,51a	17,31bc	992abc	1026	967bcd
Média	2,21b	2,32b	2,96a	11,86b	14,08a	996ns	1016ns	1012ns

DMS (Tukey 1%)

Ép/Trat 1,03 4,21 103

Trat 0,24 0,98 ---

CV (%) 31,94 25,44 7,85

seja, 5,5 ppm, os teores iniciais diferem entre si devido à natureza de cada produto adicionado.

No tratamento em que foi adicionado o fertilizante sulfato de amônia, observou-se um maior teor de amônio (Tabela 3) no período inicial, devido à recém incorporação daquele fertilizante. Entretanto, após quinze dias, este teor havia decrescido em até 1/3 do valor total devido à imobilização e/ou fixação do amônio, já que o solo possuía alto teor de argila (Tabela 2) (BARSHAD, 1950; NOMMIK, 1965). A partir dos 30 dias de incubação, não houve mais diferenças quanto à disponibilidade do amônio no solo, não havendo assim diferenças estatísticas. Perdas de amônia por volatilização são difíceis de se processar em solos com pH em torno de 5 (BROADBENT e STOJANOVIC, 1952; TERMAN, 1979); assim, uma das alternativas para se explicar a baixa concentração de NH_4^+ durante a incubação do solo seria a imobilização do N.

Nos tratamentos com matéria orgânica marcada (^{15}N) e não marcada, a liberação do N-NH_4^+ foi praticamente a mesma que no tratamento anterior, evidenciando uma estabilização com relação a este íon, já a partir dos 30 dias de incubação (Figuras 7 e 8), o que denota uma alta imobilização do NH_4^+ após este período. Segundo JANSSON e PERSSON (1982), PAUL e VAN VEEN (1979), a adição ao solo de materiais orgânicos com alta relação C/N estimula a imobilização do nitrogênio e também outros minerais do solo. Os resultados estão de acordo com aqueles encontrados por BONETTI (1982), que trabalhou com incorporações de bagaço de cana ao solo. JANSSON (1958) afirma que o NH_4^+ produzido nos processos de amonificação ou adicionado ao solo por qualquer fonte, tem utilização preferen-

TABELA 4 - Umidade (%) do solo, durante as diferentes épocas de incubação do solo, determinada em estufa a 100°C, nos três tratamentos (MO-¹⁴N, MO-¹⁵N e Sulfato de Amônia-¹⁵N). Os dados são médias de quatro repetições.

Período de Incubação (dias)	MO- ¹⁴ N	MO- ¹⁵ N	Fertil.	Média
0	11,70d	11,88e	11,73d	11,77e
15	14,18c	13,98d	14,62c	14,26d
30	14,94bc	14,78bcd	14,98bc	14,90cd
45	17,67a	18,01a	18,08a	17,92a
60	14,65bc	14,29cd	14,31c	14,42d
75	15,76b	15,18bcd	15,60bc	15,51bc
90	14,23bc	15,23bcd	14,80bc	14,75cd
105	15,40bc	15,89b	15,60bc	15,63bc
135	15,73bc	15,84bc	16,29b	15,95b
165	15,22bc	15,62bc	15,73bc	15,52bc
Média	14,95	15,07	15,17	

DMS (Tukey 1%)

Ep/Trat 1,55

Época 0,89

CV(%) 7,9

cial pela população microbiana do solo em relação ao NO_3^- durante a imobilização, porém, quando o NO_3^- está disponível no solo e o NH_4^+ está em falta, este é utilizado pelos microrganismos.

Na média, observa-se que os teores de N-NO_3^- (Tabela 3) no solo variam de acordo com os tratamentos e épocas, da mesma forma que os teores de N-NH_4^+ . Observa-se que os teores de N-NO_3^- , nos três tratamentos, variaram em função das épocas de amostragem. Na média, a liberação do N-NO_3^- foi semelhante nos tratamentos que receberam a adição da matéria orgânica, sendo menor, porém, ($p=0,01$) que no tratamento que recebeu o sulfato de amônia (Tabela 3; Figuras 7, 8 e 9).

Observa-se que houve uma redução drástica no teor de N-NO_3^- 90 dias após a incorporação nos três tratamentos. Segundo FOCHT e VERSTRAETE (1977), são cinco os fatores que regulam a nitrificação nos solos: substrato NH_4^+ ; $p\text{O}_2$; $p\text{CO}_2$, pH e temperatura. No período de 90 dias, quando os teores de N-NO_3^- caíram drasticamente, a temperatura média do local experimental foi registrada como a mais alta do ano (Figura 16): 28°C . Diversos autores, como MAHENDRAPPA *et alii* (1966), KEENEY e BREMNER (1967) e MYERS (1975) observaram grandes variações de temperaturas consideradas ideais para a nitrificação entre: $20-25^\circ\text{C}$, $30-40^\circ\text{C}$ e 60°C , respectivamente. Como o teor de N-NH_4^+ já se mostrava constante nesta época para todos os tratamentos, sugere-se que esta queda seguida de um rápido aumento nos teores de N-NO_3^- seja atribuída aos fatores: umidade do solo e temperatura ambiente alta, atingindo máximas de 37°C nos dias mais quentes. No geral, observa-se que houve uma mineralização durante o período experimental, uma vez que a relação C/N do solo manteve-se em torno de 10 (Ta

bela 6), que segundo KANAMORI e YASUDA (1979) estes valores estimulam a mineralização líquida do N no solo.

STANFORD e EPSTEIN (1974) afirmam que existe uma grande correlação entre temperatura e umidade do solo para a realização da mineralização do N no solo, tendo estes autores desenvolvido um modelo matemático para prever a mineralização do N no solo. No presente caso, houve um pico máximo em todos os tratamentos para $N-NO_3^-$ aos 60 e 75 dias de incubação. Observa-se que os maiores valores encontrados para a umidade do solo estavam entre 30 e 45 dias (Tabela 4), diminuindo logo em seguida. O fator umidade, nesta época pode ter favorecido uma maior nitrificação do N aos 60 dias. MEYERS *et alii* (1982), trabalhando com cinco solos diferentes e a duas profundidades, observaram que à medida que se aumentavam as umidades de cada solo, a taxa de mineralização do N aumentava. Em média, esta correlação era observada até 35-55% de umidade no solo.

Os teores de N-total (N-orgânico + N-mineral) mostraram pequenas variações durante o período experimental. BONETTI (1982) observou os mesmos resultados, trabalhando com solos de vegetação natural e solo cultivado. No tratamento $M0 - ^{14}N$ (Figura 7), aos 45 dias de incubação, observou-se um elevado teor do N-total. Isto se repete para o tratamento $M0 - ^{15}N$ (Figura 8), embora neste tratamento não tenha havido diferenças estatísticas. Os resultados obtidos para teores de N-orgânico (Tabela 8) mostram variações durante o período experimental. Estes resultados poderiam ser explicados pela baixa concentração da marcação da matéria orgânica total do solo (Figura 15), que indica erros na análise

TABELA 5 - Percentagem de átomos de ^{15}N em excesso nas frações N-NH_4^+ , N-NO_3^- e N-total do solo, nos tratamentos com incorporação de matéria orgânica de milho enriquecida e $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, nas dez épocas de amostragem.

Período de Incubação (dias)	Amônio (NH_4^+)		Nitrito (NO_2^-)		Nitrato (NO_3^-)		N-Total	
	MO- ^{15}N	Sulfato ^{15}N	MO- ^{15}N	Sulfato ^{15}N	MO- ^{15}N	Sulfato ^{15}N	MO- ^{15}N	Sulfato ^{15}N
0	1,538a	2,133a	2,165d	0,759c	0,237a	0,055 ns	0,237a	0,055 ns
15	0,968b	0,286b	2,487bcd	1,220ab	0,170c	0,053 ns	0,170c	0,053 ns
30	0,848bc	0,178b	2,986a	1,311a	0,179bc	0,052 ns	0,179bc	0,052 ns
45	0,519bcd	0,044b	2,235d	0,786c	0,200abc	0,049 ns	0,200abc	0,049 ns
60	0,635bcd	0,388b	3,037a	1,039abc	0,205abc	0,048 ns	0,205abc	0,048 ns
75	0,689bc	0,162b	2,758abc	0,965abc	0,251a	0,050 ns	0,251a	0,050 ns
90	0,533bcd	0,140b	2,507bcd	0,867bc	0,236a	0,043 ns	0,236a	0,043 ns
105	0,483cd	0,115b	2,826ab	0,861bc	0,221abc	0,036 ns	0,221abc	0,036 ns
135	0,475cd	0,170b	2,548bcd	0,758c	0,176c	0,035 ns	0,176c	0,035 ns
165	0,225d	0,001b	2,399d	0,799bc	0,228ab	0,036 ns	0,228ab	0,036 ns
Média	0,691a	0,361b	2,594a	0,936b	0,210a	0,038b	0,210a	0,038b

DMS (Tukey 1%)

Ép/trat 0,455

0,425

0,051

Trat 0,086

0,080

0,009

CV (%) 65,64

18,27

31,25

TABELA 6 - Teores médios (%) de carbono total, determinados no solo durante o período de incubação de 165 dias e relação C/N nos períodos correspondentes.

Período de Incubação (dias)	MO - ^{14}N		MO - ^{15}N		SA - ^{15}N	
	%C	C/N	%C	C/N	%C	C/N
0	1,01	10,2	0,98	9,9	1,01	10,2
15	0,98	9,9	1,04	10,5	1,07	11,1
30	0,89	9,8	0,95	9,3	0,92	8,7
45	0,98	9,3	1,01	9,8	0,74	6,8
60	0,98	9,5	1,01	10,2	1,16	12,5
75	1,07	11,3	0,95	9,6	1,01	10,3
90	0,89	8,5	0,83	7,8	0,89	8,3
105	0,77	7,5	0,81	7,7	0,98	9,4
135	0,95	10,0	0,98	9,9	0,92	8,9
165	0,98	9,9	0,98	9,5	0,86	8,9

isotópica, independentes de manipulação da amostra. Observa-se ainda que houve um ligeiro declínio nos teores de carbono (Tabela 6), embora não se ja estatisticamente diferente.

4.2. Variação dos teores de ^{15}N no solo

Os resultados podem ser vistos na Tabela 5 e Figuras 10 a 15. Observa-se uma distribuição distinta quanto aos teores de ^{15}N no solo, nos tratamentos $\text{MO-}^{15}\text{N}$ e sulfato de amônia- ^{15}N nas diferentes épocas, mesmo com relação ao amônio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) e ao N-total (N-orgânico + N-mineral) proveniente dos dois compostos. Os teores de ^{15}N (% átomos em excesso) do NH_4^+ dos dois tratamentos, variaram com o passar do tempo. Estes apresentavam inicialmente um valor alto, decaindo com o passar do tempo.

A percentagem de $^{15}\text{N}(\text{NH}_4^+)$ no tratamento sulfato de amônia caiu drasticamente após 15 dias de incubação, permanecendo estável, não mais variando estatisticamente, indicando que houve uma retenção de N-NH_4^+ pelo solo. KOWALENKO e CAMERON (1976) observaram que aproximadamente metade do N-NH_4^+ adicionado ao solo foi fixado após dois dias da aplicação do $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ em um solo argiloso. O teor de ^{15}N no solo apresenta-se com um mais baixo valor aos 165 dias de incubação, indicando que praticamente todo íon NH_4^+ proveniente do sulfato de amônia havia passado para as frações orgânicas do solo. A amônia pode reagir com a matéria orgânica,

formando vários complexos altamente estáveis quimicamente e são caracterizados pela sua resistência à decomposição microbiana do solo (NOMMIK e VAHTRAS, 1982).

No tratamento matéria orgânica- ^{15}N houve uma liberação lenta e gradual dos teores de $^{15}\text{N}(\text{NH}_4^+)$ em excesso, diferindo muito do tratamento sulfato de amônia (Tabela 5). O teor mais alto de ^{15}N em excesso foi observado na época inicial por ocasião da montagem do experimento, decrescendo lentamente com o decorrer do tempo até atingir, aos 165 dias, em torno de 15% do teor inicial, mostrando que a incorporação da palha de milho ao solo promoveu uma mineralização lenta do N-amoniacal, com uma tendência a diminuir conforme diminui o teor de ^{15}N nesta fração.

As percentagens nos teores de ^{15}N em excesso da fração NO_3^- nos dois tratamentos, tiveram uma variação semelhante no que se refere ao tempo de incubação, embora no tratamento matéria orgânica, este teor tenha sido relativamente maior em todos os tempos, pois a palha utilizada estava enriquecida a 49% átomos de ^{15}N em excesso, ao passo que o fertilizante apenas 10% de átomos de ^{15}N em excesso. Observa-se que no tratamento sulfato de amônia os menores teores de ^{15}N estão nos tempos inicial e final do experimento. A maior concentração de ^{15}N foi observada aos 30 dias de incubação, decrescendo em seguida. Estes valores não correspondem aos teores (mg) de N- NO_3^- mineralizados nos tempos correspondentes (Tabela 3 e Figuras 9 e 14). A este fenômeno cita o fato "reversão" que pode ser devido em parte ao acúmulo de frações resistentes do N microbiano e em parte à formação de compostos mais resistentes aos ataques microbianos ou à mineralização e imobilização ocorrendo simultaneamente

(BROADBENT e NAKASHIMA, 1965).

No tratamento matéria orgânica - ^{15}N , a mesma tendência que no tratamento anterior foi observada com relação à disponibilidade do ^{15}N no solo. Teores mais baixos foram observados nos tempos inicial e final, porém, o valor mais alto foi observado aos 30 e 60 dias de incubação. Neste tratamento, as maiores concentrações (ppm) de N-NO_3^- no solo foram observadas nos tempos finais (Tabela 3) da incubação, evidenciando assim o fenômeno da reversão entre a abundância do N mineralizado e a quantidade do N mineralizado no solo. Ainda observa-se neste tratamento que a menor abundância do ^{15}N da fração N-NO_3^- detectada no solo (observada no tempo inicial) corresponde a 70% da maior abundância do mesmo ^{15}N (observada aos 60 dias de incubação), ao passo que no tratamento sulfato de amônia, a menor abundância (observada aos 135 dias) estava em torno de 58% da maior (observada aos 30 dias) (Tabela 5), evidenciando que há uma liberação mais lenta do N proveniente da matéria orgânica incorporada para o solo.

A abundância isotópica do ^{15}N no solo proveniente do N-total pouco variou em função do tempo de incubação (Tabela 5). No tratamento sulfato de amônia, os valores encontrados não foram estatisticamente diferentes e suas variações durante o período experimental foram mínimas, indicando que o teor de N-total neste tratamento possui um estoque de N homogeneamente marcado com ^{15}N . No tratamento matéria orgânica- ^{15}N , valores máximos de % de átomos de ^{15}N em excesso foram encontrados aos 0, 75 e 90 dias de incubação. Os valores mais baixos foram observados aos 15 e 115 dias de incubação. Não foram encontradas correlações que

explicassem estas oscilações na abundância de ^{15}N .

4.3. Teor total de nitrogênio no solo

Na Tabela 7 são apresentados os dados médios das quantidades (mg) de nitrogênio analisadas nos lisímetros, em diferentes épocas de incubação, nos dois tratamentos com adição de ^{15}N . No tratamento $\text{M0-}^{15}\text{N}$ diferenças estatísticas ($p = 0,01$) foram observadas somente para o teor de nitrogênio proveniente do fertilizante (QNpf) na fração NO_3^- . Observa-se que o maior teor observado do Npf foi aos 60 dias de incubação, enquanto que valores estatisticamente diferentes ($p = 0,01$) só foram observados em épocas anteriores (0 e 30 dias de incubação). Estes teores, porém, não diferem entre si nas demais épocas. Por outro lado, no tratamento $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, apenas os valores provenientes do N-total não foram estatisticamente significativos ($p = 0,01$).

A percentagem do nitrogênio derivado do fertilizante nos dois tratamentos é relativamente similar ao percentual de ^{15}N em excesso analisado no solo durante as diferentes épocas de amostragem, tendo sido anteriormente discutidas. As mesmas considerações já feitas para este parâmetro são também válidas, uma vez que as quantidades de N dependem do teor (%) de nitrogênio, da quantidade de solo e do enriquecimento isotópico do ^{15}N da matéria orgânica e do fertilizante utilizado, que no presente caso é 49% e 10% de átomos de ^{15}N em excesso, respectivamente. No tratamento em que se adicionou o sulfato de amônia- ^{15}N (Tabela 7), observa-se uma diminuição na quantidade de N proveniente do fertilizante (QNpf) na fração NH_4^+ . No tempo inicial do experimento observou-se o maior va-

lor, sendo que logo aos 15 dias, foi drástica a diminuição, atingindo os mais baixos níveis aos 165 dias. Com relação a esta baixa significância estatística para a QNpf na fração N-NH_4^+ , deve-se salientar que houve muita variabilidade na análise isotópica de ^{15}N deste íon, devido à baixa concentração de N nesta fração logo após os 15 dias de incubação (Tabela 3), dificultando muito a sensibilidade do espectrômetro de massa. O coeficiente de variação destas análises já se apresentaram altos (Tabela 5) e se elevou ainda mais quando se utilizou dos resultados isotópicos para se calcular a QNpf na fração N-NH_4^+ (Tabela 7).

Na fração NO_3^- , o menor teor do Npf foi observado no tempo inicial do experimento. Observou-se aos 60 dias de incubação uma quantidade maior do Npf, o qual estabilizou logo após aos 75 dias de incubação.

A recuperação do N adicionado (Tabela 8) no trat. Sulfato de amônia decresceu com o passar do tempo, atingindo 65% aos 165 dias após a adição do fertilizante ao solo. Porém, na média geral (Tabela 8A), estes valores foram 79,1% e 84,8 para os tratamentos $\text{M0-}^{15}\text{N}$ e sulfato do amônia- ^{15}N , respectivamente. Embora estes resultados não sejam estatisticamente diferentes, no tratamento $\text{SA-}^{15}\text{N}$ os maiores valores são observados no período inicial do experimento (até os 90 dias), de crescendo a partir desta data até os 165 dias. O contrário é observado no tratamento $\text{M0-}^{15}\text{N}$, que apresenta resultados mais uniformes ao longo dos 165 dias. Os resultados obtidos estão de acordo com KOWALENKO (1981), que encontrou, já aos 150 dias de incubação, perdas de até 16% do fertilizante adicionado. Em trabalhos anteriores com o mesmo solo, perdas

TABELA 7 - Percentagem (%) do nitrogênio proveniente do fertilizante (% Npf) e quantidade (mg) do nitrogênio proveniente do fertilizante (QNpf) nas frações Amônio, Nitrato e N-total da matéria orgânica-¹⁵N e do fertilizante (¹⁵NH₄)₂SO₄, analisados em dez épocas de amostragem (165 dias). Os dados correspondem a três profundidades com quatro repetições cada uma.

Período de Incubação (dias)	MO - ¹⁵ N						⁽¹⁵ NH ₄) ₂ SO ₄					
	NH ₄ ⁺ (MO)		NO ₃ ⁻ (MO)		N-Total (MO)		NH ₄ ⁺ (Npf)		NO ₃ ⁻ (Npf)		N-Total (Npf)	
	(%)	(mg)	(%)	(mg)	(%)	(mg)	(%)	(mg)	(%)	(mg)	(%)	(mg)
0	3,08	484,2	4,36	1137,9b	0,42	14418,9	21,33a	8439,9a	7,59d	2135,1d	0,55	16483,4
15	1,75	282,4	5,02	1309,1ab	0,30	10401,2	2,86b	390,7b	12,20a	3443,8cd	0,53	15248,1
30	1,67	93,2	6,03	1223,3b	0,30	10997,7	1,78b	101,3b	13,11a	4530,8bc	0,52	16917,3
45	1,02	77,4	4,50	1437,6ab	0,35	12710,7	0,44b	22,5b	7,86d	3120,8cd	0,49	16140,6
60	1,24	53,9	6,15	3213,6a	0,36	12456,9	3,88b	172,4b	10,39bc	7102,5a	0,48	13435,2
75	1,35	76,9	5,58	2260,1ab	0,45	15459,9	1,62b	93,9b	9,65cd	6126,6ab	0,50	15056,9
90	1,02	41,9	5,06	1467,8ab	0,42	15355,1	1,40b	63,4b	8,67cd	2821,8cd	0,43	14038,4
105	0,92	46,1	5,72	2443,5ab	0,39	14167,6	1,15b	50,2b	8,61cd	3950,5cd	0,36	11560,5
135	0,91	47,5	5,15	2273,4ab	0,30	10758,3	1,70b	81,8b	7,58d	3537,8cd	0,35	10794,0
165	0,41	19,7	4,85	2683,2ab	0,40	14308,0	0,01b	0,4b	7,99d	4332,8bc	0,36	10899,9

DMS (Tukey 1%)

Ep/Trat	ns	ns	ns	1905,2	ns	ns	3,04	1612,9	2,23	1905,2	ns	ns
CV (%)	94,2	130,4	23,28	27,1	45,03	23,7	94,2	130,4	23,28	27,1	45,03	23,7

TABELA 8 - Teores (mg) calculados isotopicamente de nitrogênio: mineral (NH_4^+ + NO_3^-), orgânico e total (mineral + orgânico) e % de recuperação do N adicionado (16,57 kg N/ha) ao solo, nos tratamentos MO- ^{15}N e ($^{15}\text{NH}_4$) $_2\text{SO}_4$, durante 165 dias de incubação, distribuídos em dez épocas de amostragem.

Período de Incubação (dias)	MO - ^{15}N				($^{15}\text{NH}_4$) $_2\text{SO}_4$			
	Mineral (mg)	Orgânico (mg)	Total (mg)	Recup. (%)	Mineral (mg)	Orgânico (mg)	Total (mg)	Recup. (%)
0	1622,1	12796,8	14418,9	87,0	10575,0a	5908,4c	16483,4	99,4
15	1591,5	8809,7	10401,2	62,8	3834,5d	11413,6abc	15248,1	92,0
30	1316,5	9681,2	10997,7	66,4	4632,1cd	12285,2a	16917,3	102,0
45	1515,0	11195,7	12710,7	76,7	3143,3d	12997,3ab	16140,6	97,4
60	3267,5	9189,4	12456,9	75,2	7274,9b	6160,3c	13435,2	81,1
75	2337,0	13122,9	15459,9	93,3	6220,5bc	8836,4abc	15056,9	90,8
90	1509,7	13845,4	15355,1	92,7	2885,2d	11153,2abc	14038,4	84,7
105	2489,6	11678,0	14167,8	85,5	4000,7cd	7559,8abc	11560,5	69,8
135	2320,9	8437,4	10758,3	64,9	3619,6d	7174,4bc	10794,0	65,1
165	2702,9	11605,1	14308,0	86,3	4333,2cd	6566,7bc	10899,9	65,8
Média	2067,1	11037,1	13103,5	79,1	5072,2	9173,9	14057,7	84,8

DMS (Tukey 1%)

Épocas	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	28,9	28,2	22,9	22,9	28,9	22,9

entre 35 e 46% do N adicionado foram observadas por KOWALENKO (1978) e KOWALENKO e CAMERON (1978). Estes autores atribuíram a estas perdas a lixiviação e desnitrificação do N no solo. Observa-se ainda pela Tabela 8 que as formas inorgânicas de N no solo são, em média, 15% do N-total no tratamento $M0-^{15}N$ e 36% do N-total no tratamento $(^{15}NH_4)_2SO_4$, embora não sejam estatisticamente significativas, porém, a Tabela 8A mostra que houve diferenças estatísticas pelo teste F ($< 1,0\%$) no teor médio de N-mineral entre os dois tratamentos, mostrando que no tratamento $SA-^{15}N$ este valor foi superior com relação ao do tratamento $M0-^{15}N$. Por outro lado, o inverso é observado para o N-orgânico. No tratamento referente à $M0-^{15}N$, o valor médio foi diferente e superior ao observado no tratamento $SA-^{15}N$. Os teores médios de N-total e percentagem de recuperação não foram estatisticamente significativos também pelo teste F ($< 1,0\%$).

MALAVOLTA (1976) considera que 98% do N no solo está na forma orgânica e apenas 2% do mesmo é encontrado na fração inorgânica, isto em condições de campo. No presente caso, como o solo estava contido em lisímetros e toda solução do solo excedente era devolvida para o mesmo, não houve perdas por lixiviação do N, o que contribuiu para manter os teores de N inorgânico no sistema.

TABELA 8A - Teores médios (mg) de N (mineral, orgânico e total) e % de recuperação do N adicionado (5,53 mg N/kg de solo) ao solo, nos tratamentos M0-¹⁵N e sulfato de amônia-¹⁵N (SA-¹⁵N). Os dados são médias de dez períodos de amostragens x 12 repetições.

	N - Mineral (mg)		N - Orgânico (mg)		N-Total (mg)		Recuperação (%)	
	M0- ¹⁵ N	SA- ¹⁵ N	M0 - ¹⁵ N	SA- ¹⁵ N	M0 - ¹⁵ N	SA - ¹⁵ N	M0- ¹⁵ N	SA- ¹⁵ N
Média	2067,1b ⁽¹⁾	5072,2a ⁽¹⁾	11037,1a ⁽¹⁾	9173,9b ⁽¹⁾	13103,5(ns)	14057,7(ns)	79,1(ns)	84,8(ns)
CV (%)	28,9		28,2		22,9		22,9	

(1) Significativo pelo Teste F (< 1,0%)

Observa-se ainda pela Tabela 8 que nenhum dos parâmetros (N-mineral, orgânico e total e % recuperação) mostrados para o tratamento $M0-^{15}N$ foram estatisticamente significativos. Porém, no tratamento $SA-^{15}N$ somente os valores de N (mineral e orgânico) foram estatisticamente significativos ($p = 0,01$) em função das diferentes épocas de amostragem, mostrando que o maior valor para N-mineral neste tratamento e logo no período inicial (0 dias), correspondendo aos valores encontrados para $N-NH_4^+$ (ppm) (Tabela 3) e QNpf da fração $N-NH_4^+$ (Tabela 7) do mesmo tratamento. O teor médio foi observado aos 60 dias, ficando os demais entre este intervalo. Para os teores de N-orgânico, os resultados foram pouco diferentes em relação ao N-mineral, pois seu cálculo foi baseado na diferença entre o N-total e o N-mineral. Desta forma, como os teores de N-total pouco variaram durante o período de incubação, na média onde havia os maiores teores de N-mineral foi observado os menores valores de N-orgânico e/ou vice-versa.

4.4. Influência das três profundidades nos teores de NH_4^+ , NO_3^- , N-total e umidade do solo

As Tabelas 9, 10 e 12 mostram os resultados obtidos durante os 165 dias de duração do experimento, nas diferentes profundidades do solo, bem como o resumo das análises estatísticas obtidas para os teores (ppm) de NH_4^+ , NO_3^- e N-total. Como não houve interações fertilizante x profundidade, juntou-se os dois para análise dos resultados.

TABELA 9 - Teores de NH_4^+ (ppm), em diferentes profundidades e em diferentes épocas de amostragem do solo (médias de doze repetições).

Período de Incubação (dias)	Profundidade (cm)		
	0-30	30-60	60-90
0	7,68	7,58	8,48
15	5,02	4,79	4,83
30	1,49	1,79	1,83
45	1,55	1,72	1,97
60	1,17	1,47	1,60
75	2,07	1,72	1,71
90	1,10	1,29	1,39
105	1,00	1,58	1,72
135	1,16	1,56	1,78
165	1,01	1,19	1,41
Média	2,33b	2,47ab	2,68a

DMS (Tukey 1%)

Prof. 0,24

CV (%) 31,94

As análises estatísticas indicam que houve diferenças significativas entre algumas épocas e profundidades estudadas.

Profundidade x teores de N-NH_4^+

Nota-se, pela Tabela 9 que, embora as diferentes épocas com relação aos teores de NH_4^+ nas três profundidades não tenham sido estatisticamente diferentes, observa-se que os teores maiores correspondem as épocas 1 e 2 (0 e 15 dias, respectivamente) nas três profundidades. Na média geral das três profundidades, observa-se que houve uma maior concentração dos teores de N-NH_4^+ nas camadas inferiores do solo ($p = 0,01$), ou seja, entre 60 e 90 cm de profundidade. Em seguida entre 30-60 cm observou-se os teores médios e, finalmente, na camada superficial, observou-se os teores mais baixos de NH_4^+ ($p = 0,01$).

Profundidade x teores de N-NO_3^-

Na Tabela 10 observa-se os resultados obtidos para os teores de N-NO_3^- nas três profundidades. As diferenças estatísticas observadas ($p = 0,01$) indicam efeitos significativos para épocas e profundidades.

Observa-se que na parte superficial do solo (0-30 cm) houve uma maior concentração do N-NO_3^- aos 60 e 75 dias de incubação. Menores teores de N-NO_3^- foram observados aos 15 dias, diferentes estatisticamente dos teores encontrados nas demais épocas. Por outro lado, nas camadas mais inferiores do solo (30-60 cm), um comportamento diferente nos teores de N-NO_3^- foi observado. Neste caso, os maiores valores encontrados estão nas épocas finais do experimento, ou seja, a partir dos 60 dias estes va-

TABELA 10 - Teor de NO_3^- (ppm) em diferentes profundidades e em diferentes épocas de amostragem do solo (médias de doze repetições).

Período de Incubação (dias)	Profundidade (cm)		
	0-30	30-60	60-90
0	9,13bc	9,38b	4,48c
15	5,61c	8,25b	10,69c
30	7,82bc	9,49b	11,36c
45	7,84bc	10,10b	12,26c
60	16,84a	18,65a	20,93ab
75	15,21a	16,65a	16,73b
90	8,72bc	8,43b	10,52c
105	8,92bc	15,25a	17,11b
135	10,35b	15,40a	19,19ab
165	10,77b	17,29a	21,91a
Média	10,12c	12,89b	15,02a

DMS (Tukey 1%)

Tempo/Prof. 4,21

Prof. 0,98

CV (%) 25,44

lores atingiram os seus maiores teores e superiores a aqueles observados na profundidade de 0-30 cm.

Na camada mais profunda do solo (60-90 cm), observa-se que os valores de $N-NO_3^-$ aumentaram com o decorrer das diferentes épocas de amostragem, atingindo os valores máximos aos 165 dias. Observa-se ainda que, como média geral, a profundidade de 60-90 cm é a que possuía o mais alto teor de $N-NO_3^-$ em relação às demais, provavelmente acumulado pela lixiviação.

Em determinada época (135 dias de incubação), houve um gotejamento do excesso de água nos reservatórios dos lisímetros. Esta água foi devolvida nos canteiros originais e uma alíquota foi analisada quanto ao enriquecimento isotópico de ^{15}N , cujos resultados analíticos podem ser observados na Tabela 11, que mostra as variações nas concentrações de $N-NH_4^+$ e $N-NO_3^-$, bem como as percentagens do Npf na solução do solo que foi coletada na profundidade de 1,0 m e aos 135 dias após terem sido incorporados os nutrientes ao solo. Observa-se que valores bem baixos de $N-NH_4^+$ foram observados para os tratamentos correspondentes à matéria orgânica adicionada, ao passo que no tratamento referente ao $(^{15}NH_4)_2SO_4$ estes teores foram bem maiores, chegando às vezes duplicar em relação aos anteriores.

Com relação aos teores de $N-NO_3^-$, estes apresentaram teores relativamente semelhantes nos três tratamentos estudados, observando-se assim uma nitrificação homogênea nesta época. Observa-se ainda, pela Tabela 11, que havia uma alta concentração do Npf na fração $N-NO_3^-$ proveniente do $(^{15}NH_4)_2SO_4$, valores estes que são duas vezes maiores que aque

TABELA 11 - Variações nas concentrações de N-NH_4^+ e N-NO_3^- e percentagens do Npf na solução do solo coletada na profundidade de 1,0 m, após 135 dias de incubação, referentes aos três tratamentos ($\text{MO-}^{14}\text{N}$, $\text{MO-}^{15}\text{N}$ e $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$).

Tratamento	NH_4^+				NO_3^-			
	N ppm	^{15}N At. % exc.	Npf (%)		N ppm	^{15}N At. % exc.	Npf (%)	
$\text{MO-}^{14}\text{N}$	0,31	0	-		20,75	0	-	
	0,19	0	-		24,36	0	-	
	0,16	0	-		14,94	0	-	
	0,56	0	-		28,31	0	-	
$\text{MO-}^{15}\text{N}$	1,55	0,0	-		19,11	2,741	5,59	
	0,62	0,0	-		21,72	2,738	5,58	
	2,82	0,0	-		24,49	2,831	5,78	
	0,48	0,0	-		24,74	2,852	5,82	
$(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,32	0,0	-		18,08	1,211	12,11	
	8,40	0,061	0,61		21,31	0,896	8,96	
	9,24	0,016	0,16		15,12	1,189	11,89	
	1,51	0,0	-		34,65	1,183	11,83	

les encontrados no tratamento MO-¹⁵N, evidenciando que há uma maior lixiviação de N quando se utiliza um fertilizante amoniacal em relação à matéria orgânica. MEIRELLES *et alii* (1980) observaram perdas de 9% de N_{pf} utilizando o (¹⁵NH₄)₂SO₄. Os autores trabalharam com o mesmo tipo de solo (TRE), sob cultura de feijoeiro com adubação de 100 kg N/ha, e mediram a lixiviação do N a 120 cm de profundidade durante o ano todo. Na fração N-NH₄⁺ determinada nos tratamentos estudados, apenas em duas repetições do tratamento (¹⁵NH₄)₂SO₄ apresentaram uma baixa percentagem do N_{pf}, indicando uma muito baixa mobilidade do N-NH₄⁺ no solo. Os resultados de percentagem de N_{df} encontrados desta fração na água estão bem próximos aqueles observados para a mesma fração aos 135 dias (Tabela 7). Por outro lado, a percentagem de N_{df} na fração N-NO₃⁻ observada na água de lixiviação foi duas vezes superior àquela observada na mesma época, indicando que está havendo um acúmulo do N-NO₃⁻ nas camadas mais inferiores do solo, já que não há perdas por lixiviação.

Profundidade x teores de N-total

Na Tabela 12 são apresentados os teores médios de N-total (ppm) nas três profundidades, em 10 épocas de amostragem, correspondendo a 165 dias de incubação, e o resumo das respectivas análises estatísticas.

A análise estatística dos dados mostra que não houve variações (p=0,05) no teor de N-total (ppm) com relação às diferentes épocas de amostragem, porém, entre profundidades observa-se que há diferenças estatísticas (p=0,05). Os resultados indicam que houve uma maior

TABELA 12 - Teores de N-total (ppm), em diferentes profundidades e em diferentes épocas de amostragem no solo (médias de doze repetições).

Período de Incubação (dias)	Profundidade (cm)		
	0-30	30-60	60-90
0	982	1005	991
15	949	1026	977
30	1021	959	1011
45	1033	1080	1072
60	947	1012	999
75	942	977	1001
90	1050	1058	1069
105	1040	1035	1046
135	978	996	1004
165	975	989	1020
Média	992 b	1014 ab	1019 a

DMS (Tukey 5%) Prof. 24

CV (%) 7,85

concentração de N-total na profundidade de 60-90 cm, diminuindo a seguir para as profundidades superiores até atingir o menor valor na camada mais superficial do solo (30-60 cm).

URQUIAGA, C. (1982), trabalhando com o mesmo solo (TRE), com aplicação de $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e seguindo-se o destino do N ao longo do perfil do solo, observou que aos 86 dias, os teores de N-total eram maiores na superfície do solo que nas camadas inferiores do mesmo. Segundo este autor, a maior concentração de N nas camadas superficiais do solo está ligada ao fato de que há um acúmulo de matéria orgânica nestes horizontes, produto de incorporações frequentes de resíduos vegetais.

O fato de que foram observados teores maiores de N-total nos perfis mais internos do solo contido nos lisímetros pode estar relacionado com a maior concentração de N-NO_3^- nestes perfis, devido à movimentação descendente deste ânion, o que contribuiu para o aumento no teor de N-total nas mesmas camadas, uma vez que durante o período experimental não foram feitas adições de quaisquer elementos ao solo.

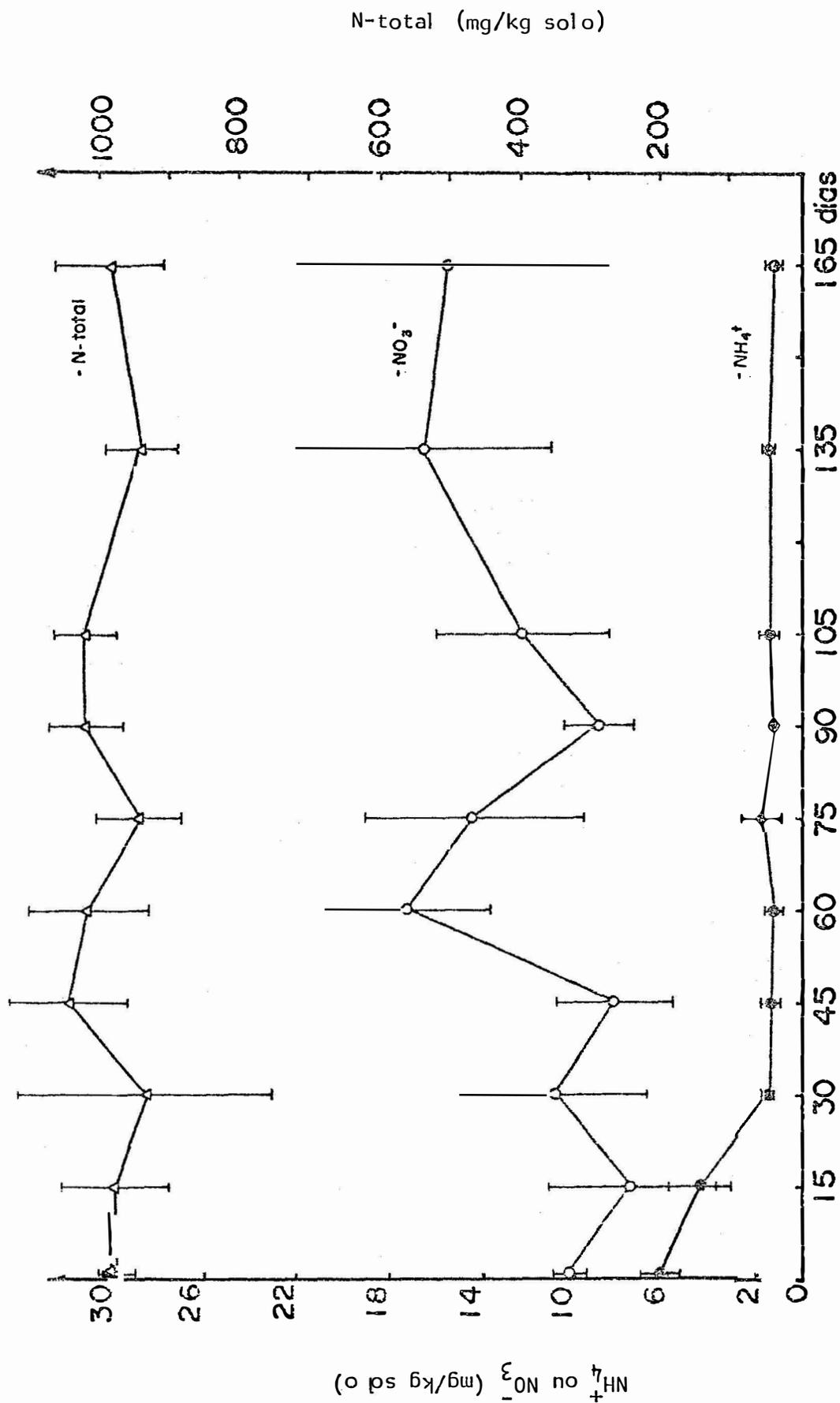


FIGURA 7 - Teores de NH_4^+ , NO_3^- e N-total do solo com adiç3o de mat3ria org4nica (5,53 mg N/kg solo), incubado por 165 dias em sistema fechado de lis3metro ao ar livre. Os pontos representam m3dias de quatro repetiç3oes.

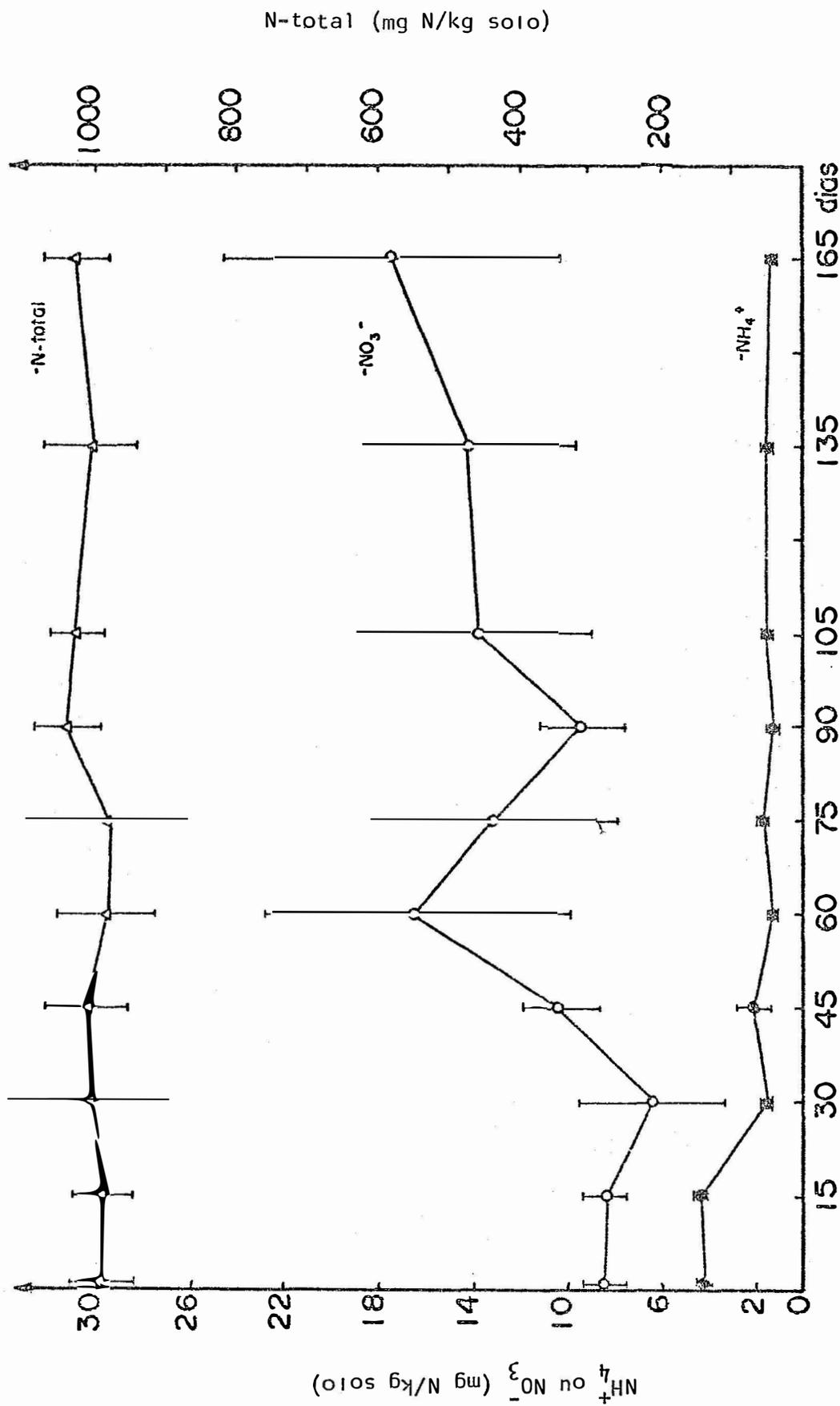


FIGURA 8 - Teores de NH_4^+ , NO_3^- e N-total do solo com adiç3o de mat6ria org4nica (5,53 mg N/kg solo) enriquecida a 49% de 6tomos de ^{15}N em excesso, incubado por 165 dias em sistema fechado de lis6metro ao ar livre. Os pontos representam m6dias de quatro repetiç3es.

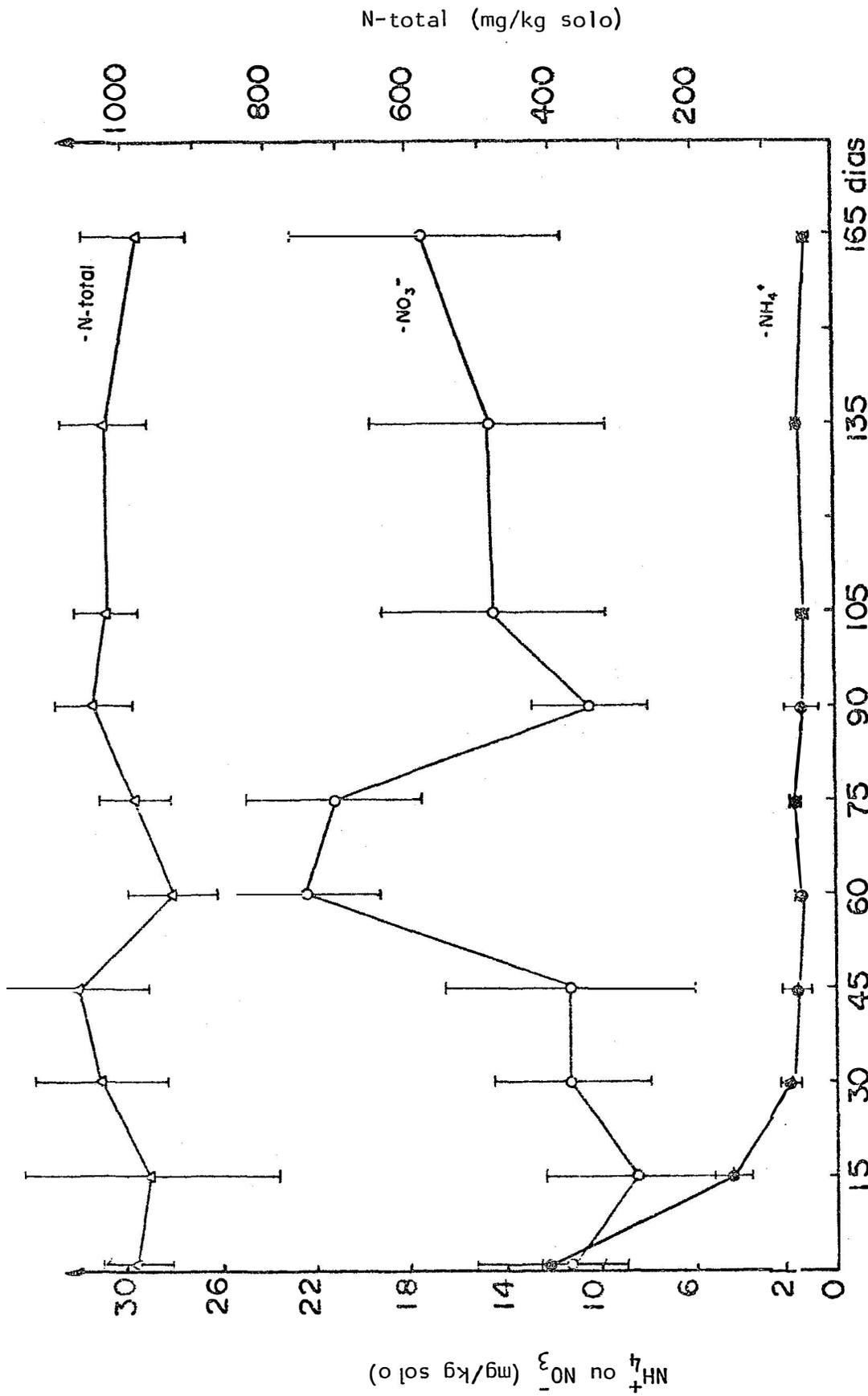


FIGURA 9 - Teores de NH_4^+ , NO_3^- e N-total do solo com adição de N (5,53 mg/kg solo) sob forma de sulfato de amonia enriquecido a 10% de átomos de ^{15}N em excesso, incubado por 165 dias em sistema fechado de lisímetro ao ar livre. Os pontos representam médias de quatro repetioes.

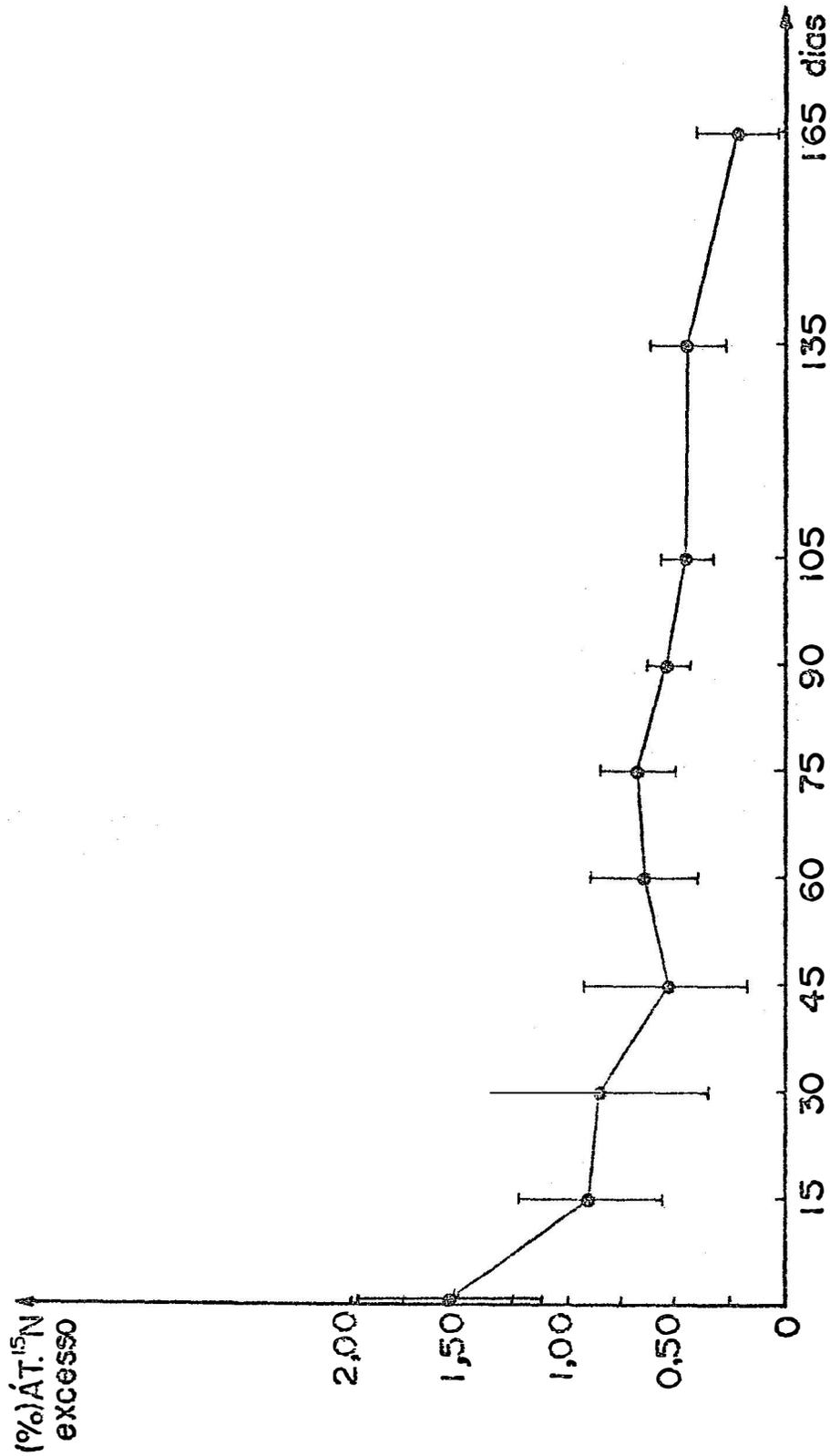


FIGURA 10 - Enriquecimento isotópico da fração NH_4^+ extraída do solo que recebeu adição (5,53 mg N/kg solo) de matéria orgânica enriquecida com ^{15}N (49% átomos em excesso), incubado por 165 dias em lisímetro ao ar livre. Os pontos representam médias de quatro repetições.

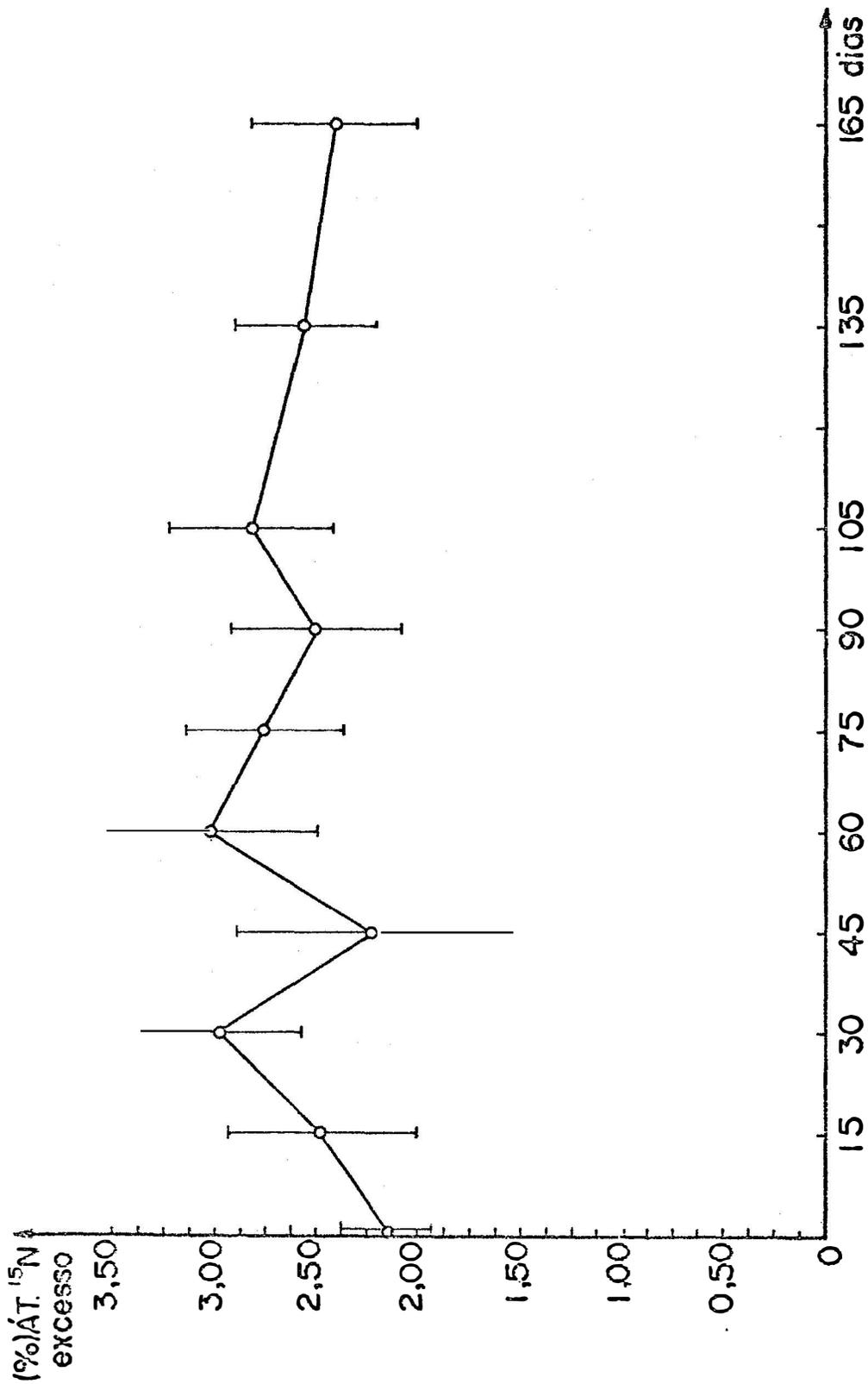


FIGURA 11 - Enriquecimento isotópico da fração NO_3^- extraída do solo que recebeu adição (5,53 mg N/kg solo) de matéria orgânica enriquecida com ^{15}N (49% átomos em excesso), incubado por 165 dias em lismo ao ar livre. Os pontos representam médias de quatro repetições.

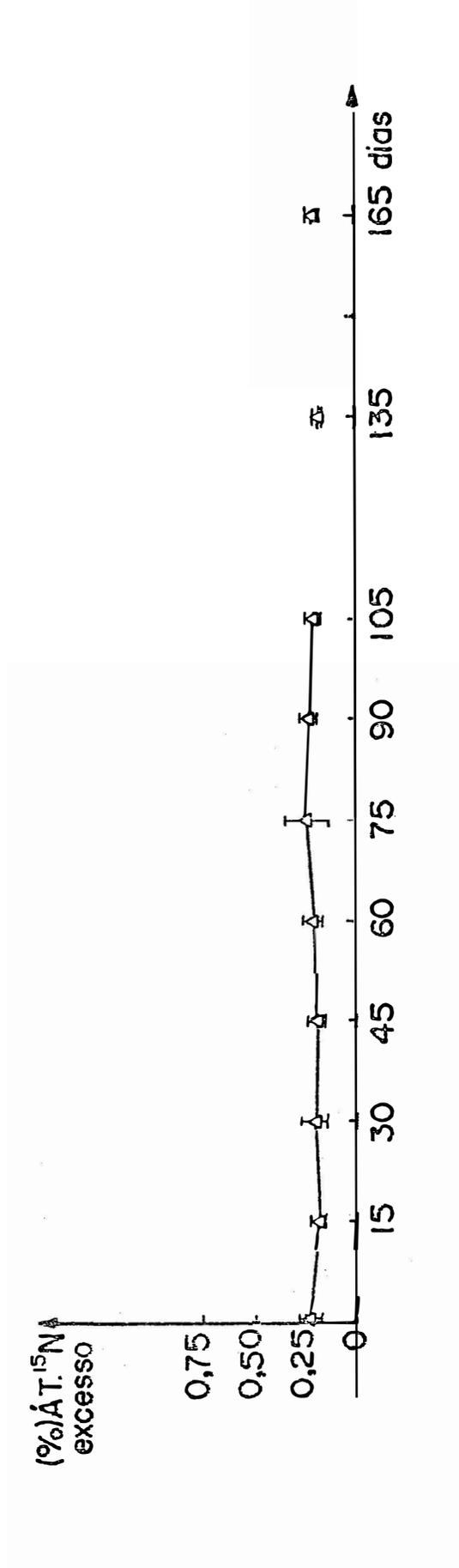


FIGURA 12 - Enriquecimento isotópico do N-total do solo que recebeu adição (5,53 mg N/kg solo) de matéria orgânica enriquecida com ¹⁵N (49% átomos em excesso), incubado por 165 dias em lisímetro ao ar livre. Os pontos representam médias de quatro repetições.

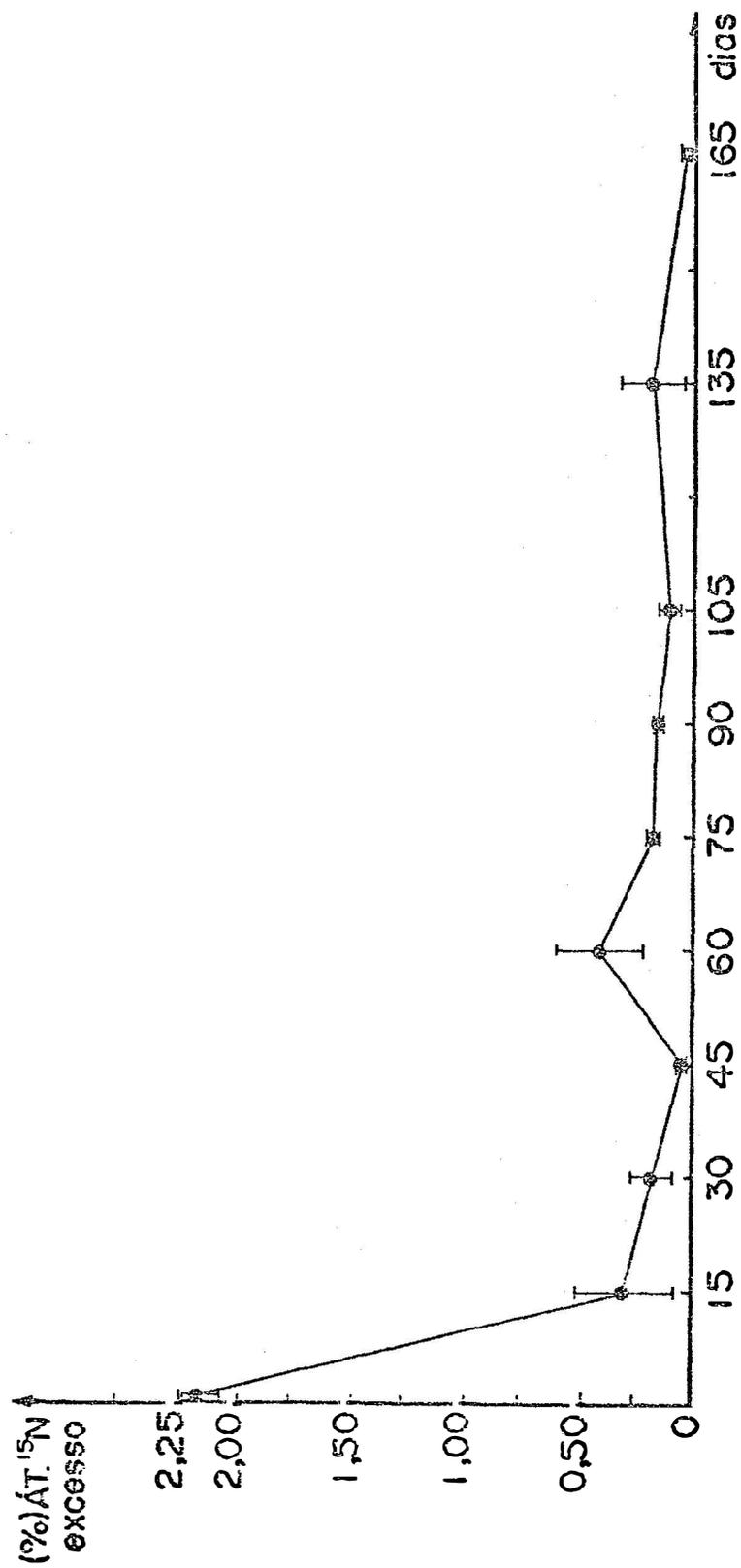


FIGURA 13 - Enriquecimento isotópico da fração NH_4^+ do solo que recebeu adição (5,53 mg N/kg solo) de sulfato de amônia enriquecido a 10% de átomos de ^{15}N em excesso, incubado por 165 dias em lisímetro ao ar livre. Os pontos representam médias de quatro repetições.

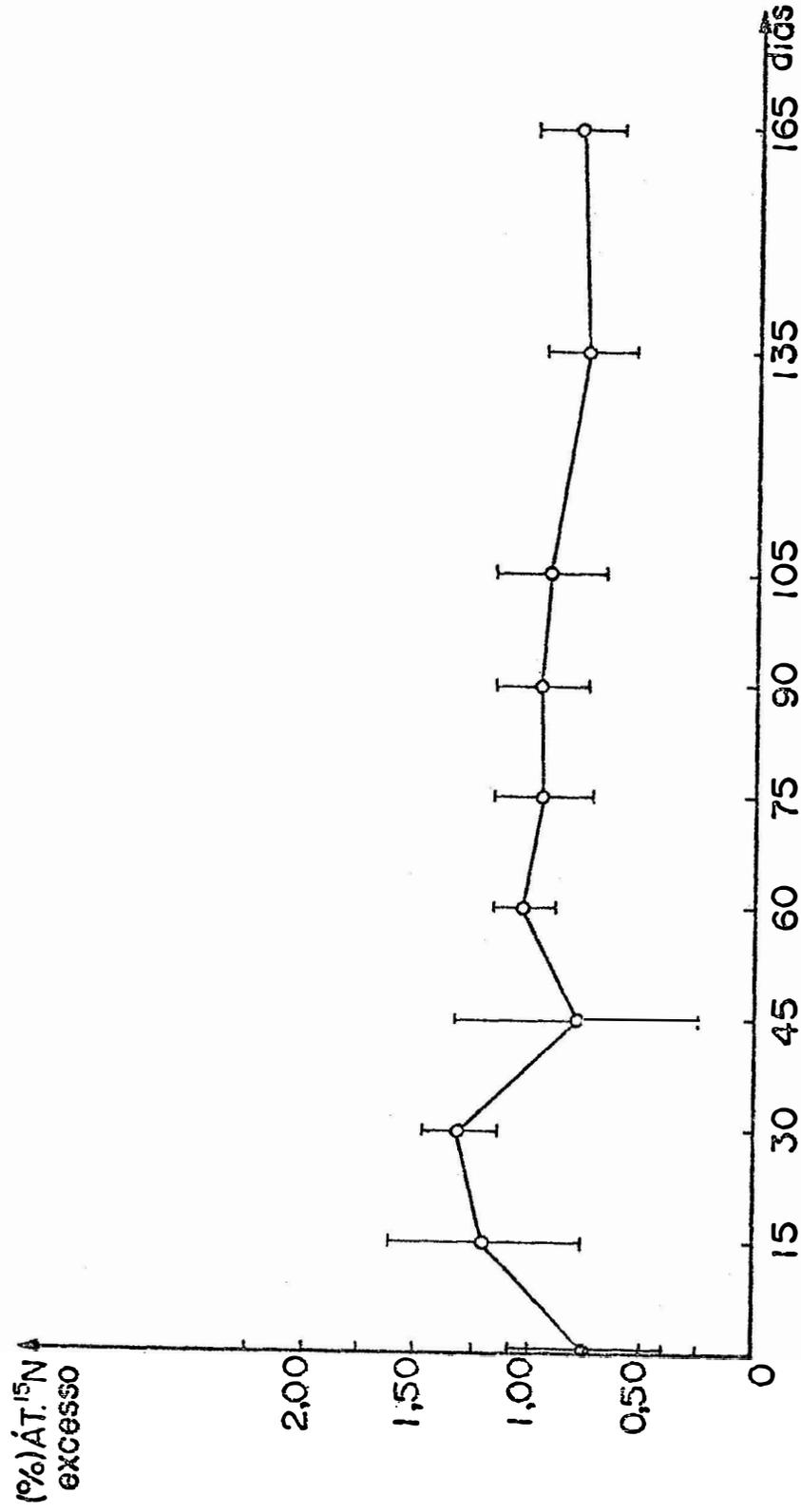


FIGURA 14 - Enriquecimento isotópico da fração NO_3^- do solo que recebeu adição (5,53 mg N/kg solo) de sulfato de amônia enriquecida a 10% de átomos em excesso, incubado por 165 dias em lisímetro ao ar livre. Os pontos representam médias de quatro repetições.

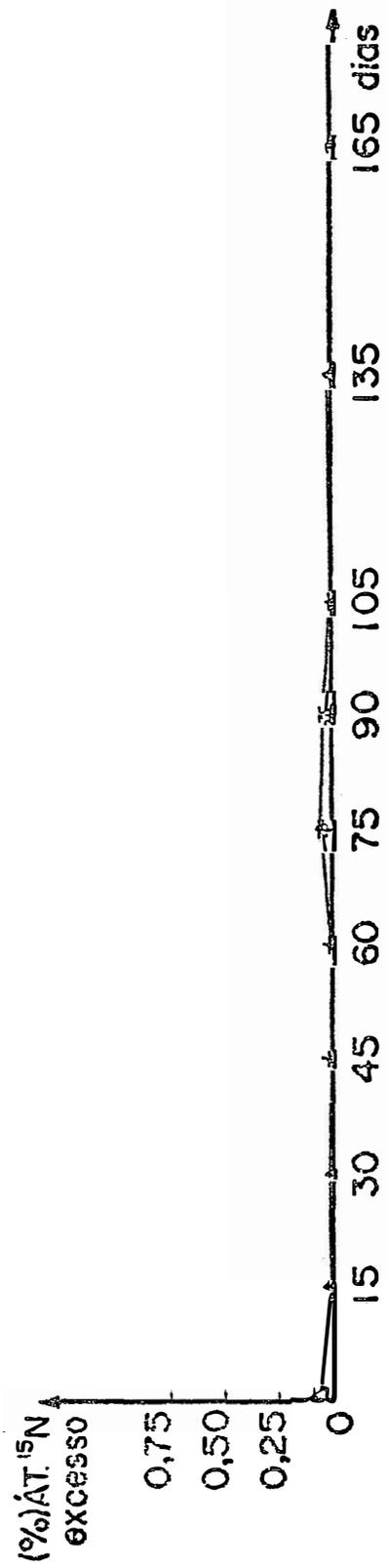


FIGURA 15 - Enriquecimento isotópico do N-total do solo que recebeu adição (5,53 mg N/kg solo) de sulfato de amônia enriquecida a 10% de átomos em excesso, incubado por 165 dias em lisímetro ao ar livre. Os pontos representam médias de quatro repetições.

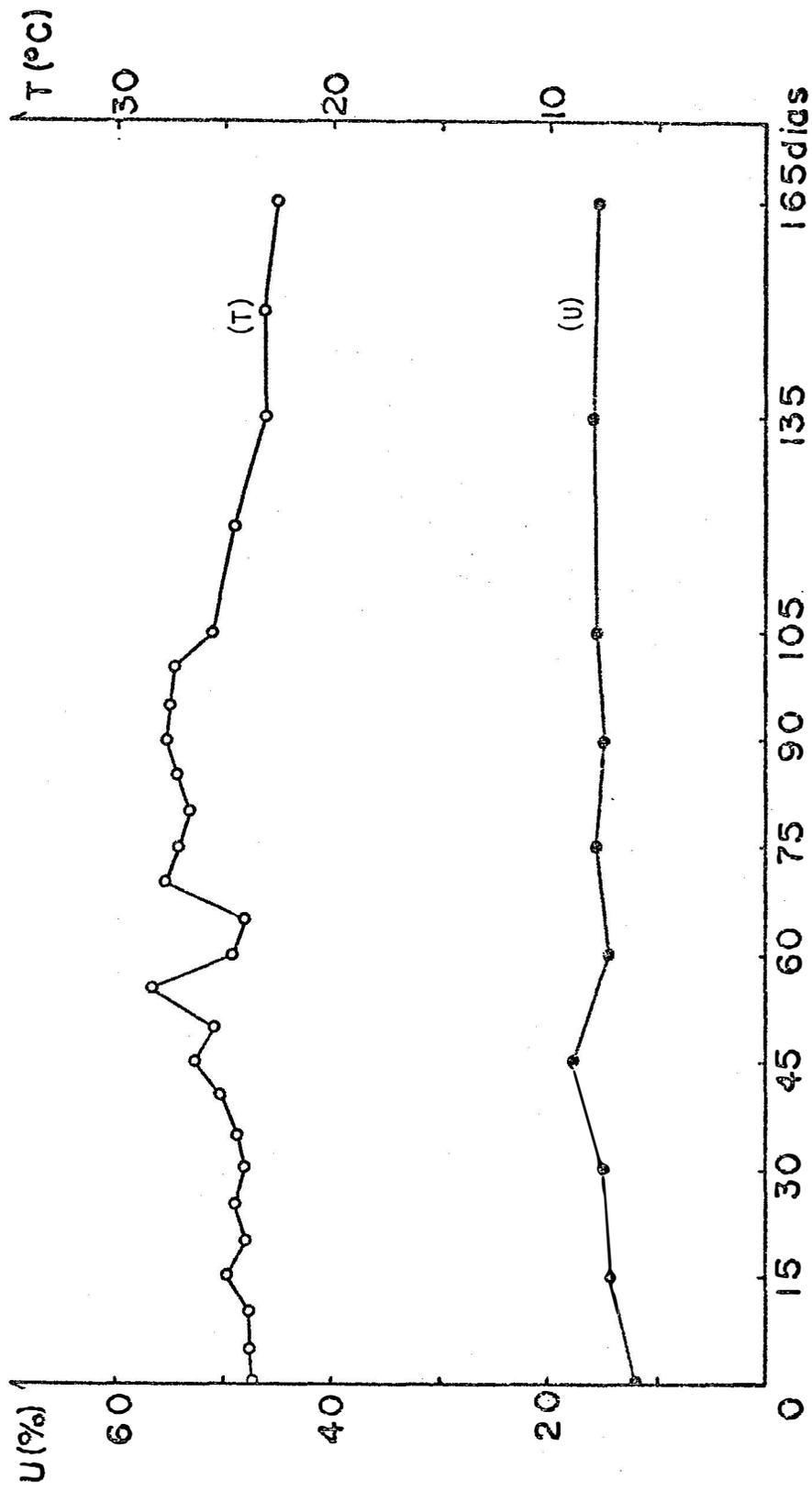


FIGURA 16 - Variações na umidade (%) do solo dos lisímetros e na temperatura ambiente (°C) observadas ao longo dos 165 dias, ocorridas na casa-de-vegetação móvel onde localizou os lisímetros utilizados no experimento.

5. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos e da discussão dos mesmos pode-se concluir que:

1) A incorporação da matéria orgânica ao solo TRE promoveu uma imobilização do nitrogênio do solo até os 60 dias, iniciando a remineralização do mesmo a partir desta época.

2) Houve uma recuperação média do nitrogênio adicionado no tratamento MO- ^{15}N da ordem de 79,1%, ao passo que no tratamento referente ao $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ esta recuperação foi de 84,8%.

3) A fração orgânica média do N do solo no tratamento MO- ^{15}N foi estimada como sendo da ordem de 85% do N-total. Este valor, no tratamento $(^{15}\text{NH}_4)$, foi estimado como sendo 65% do N-total do solo.

4) A fração N-NO_3^- foi sempre maior que a fração N-NH_4^+ no solo no decorrer do experimento, nos três tratamentos.

5) As frações do N (NH_4^+ , NO_3^- e orgânico) do solo, no tratamento que recebeu a adição de matéria orgânica enriquecida com ^{15}N foram marcadas com o isótopo ^{15}N em níveis mais elevados que aquelas mesmas frações do solo tratado com o fertilizante sulfato de amônia- ^{15}N

6) Os teores de N- NH_4^+ , N- NO_3^- , N-total e percentagem de umidade do solo foram influenciados ($p = 0,01$) pelas três profundidades estudadas (0-30, 30-60 e 60-90 cm), sempre aumentando estes teores com relação às camadas inferiores do solo.

7) Os dados de enriquecimento isotópico de ^{15}N nas frações N- NH_4^+ , N- NO_3^- e N-total indicam que o solo foi marcado com o isótopo ^{15}N .

6. SUGESTÃO

Sugere-se que o solo marcado com ^{15}N contido nos lisímetros sob os três tratamentos possa ser utilizado para estudos de fixação biológica de nitrogênio. A referência para o sistema não fixador de N_2 pode ser obtida medindo-se o enriquecimento isotópico do N-inorgânico mineralizado em amostras do solo em qualquer época. Devido ao fato que somente pequenas quantidades de N-orgânico seriam mineralizadas durante o período vegetativo da planta, diversos experimentos poderão ser conduzidos neste solo sem adições de ^{15}N . Desta forma, o problema da utilização de uma planta não fixadora de nitrogênio como planta-controle (geralmente fisiológica e morfológicamente diferente) seria superado, porém, deve-se considerar que o sistema fixador e não fixador absorva do solo marcado quantidades proporcionais do N enriquecido. A grande vantagem da utilização deste método é que o N-orgânico (enriquecido com ^{15}N) não inibe a fixação do N-atmosférico, frequentemente prejudicada nos métodos de diluição isotópica que envolvem adições de N-inorgânico ao solo.

7. LITERATURA CITADA

- ALEXANDER, M., 1977. *Introduction to soil microbiology*. New York, John Wiley & Sons, ed. 467 p.
- ALLISON, F.E., 1965. Organic carbon. *In*: BLACK, C.A., Ed. *Methods of soil analysis*. Am. Soc. Agron., Madison, Wis. p. 1372-1376.
- ALLISON, F.E., 1966. The fate of nitrogen applied to soils. *Adv. Agron.*, 18: 219-258.
- ALLISON, F.E., 1973. *Soil organic matter and its role in crop production*. New York, Elsevier Scientific Publishing Co., 637 p.
- ANDERSON, O.E. e F.C. BOSWEL, 1964. The influence of low temperature and various concentrations of ammonium nitrate on nitrification in acid soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 28: 525-532.

BARTHOLOMEW, W.V., 1971. ^{15}N in research on availability and crop use of nitrogen. In: IAEA. *Nitrogen in soil-plant studies*. Vienna, p. 1-20.

BARSHAD, I., 1950. The effect of interlayer cations on the expansion of the mica type of crystal lattice. *Amer. Mineral*, 35: 225-238.

BLACKMER, A.M. e J.M. BREMNER, 1967. Nitrogen isotope discrimination in denitrification of nitrate in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 9: 73-77.

BONETTI, R., 1982. Efeito do N do solo na fixação simbiótica do N_2 e na utilização de fertilizante nitrogenado em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Piracicaba, ESALQ/USP, 144 p. (Dissertação de Mestrado).

BOTTGER, A.; D.H. EHHALT e G. GRAVENHORST, 1978. Atmosphärische kreislauje von stickoxiden und ammoniak. Report Jul-1558, Institut 3: Atmosphärische Chemie, Kernforschungsanlage Julisch GmbH.

BOUSSINGAULT, J.B., 1856. Recherches sur la végétation. Troisième mémoire.

De l'action du sulfâtre sur le développement des plantes. *Ann. Chim. Phys. Ser. (3) 46: 5-41.*

BREMNER, J.M., 1965. Total nitrogen. *In: BLACK, C.A. et alii, Eds. Methods of soil analysis chemical and microbiological properties. Agronomy n° 9, Part 2, American Society of Agronomy, Wisconsin, p. 1149-1178.*

BREMNER, J.M. e A.P. EDWARDS, 1965. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils. I. Apparatus and procedure for distillation and determination of ammonium. *Soil Sci. Soc. Am. Proc., 29: 504-507.*

BREMNER, J.M. e D.R. KEENEY, 1965. Steam distillation methods for determination of ammonium, nitrate and nitrite. *Anal. Chim. Acta, 32: 485-495.*

BREMNER, J.M. e D.R. KEENEY, 1966. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils. III. Exchangeable ammonium, nitrate and nitrite by extraction-distillation methods. *Soil Sci. Soc. Am. Proc., 30: 577-582.*

BREMNER, J.M. e L.G. BUNDY, 1973. Use of ferrous hydroxide for determination of nitrate in soil extracts. *Commun. Soil Sci. Plant Anal., 4: 285-291.*

- BREMNER, J.M. e A.M. BLACKMER, 1981. Terrestrial nitrification as a source of atmospheric nitrous oxide. *In: DELWICHE, C.C., Ed. Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide.* John Wiley & Sons, New York. 1981. p. 151-170.
- BREMNER, J.M. e R.D. HAUCK, 1982. Advances in methodology for research on nitrogen transformations in soils. *In: STEVENSON, F.J., Ed. Nitrogen in agricultural soils.* Madison, American Society of Agronomy, 1982. p. 467-502.
- BROADBENT, F.E., 1947. Nitrogen release and carbon loss from soil organic matter during decomposition of added plant residues. *Soil Science Society Proceedings.* Iowa Agricultural Experiment Station, Ames, Iowa. U.S.A.
- BROADBENT, F.E. e B.F. STOJANOVIC, 1952. The effect of partial pressure of oxygen on some soil nitrogen transformations. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 16: 359-363.
- BROADBENT, F.E. e F. CLARK, 1965. Denitrification. *In: BARTHOLOMEW, W.V. e F.E. CLARK, Eds. Soil nitrogen.* Agronomy, n° 10.
- BROADBENT, F.E. e T. NAKASHIMA, 1965. Plant recovery of immobilized nitrogen in greenhouse experiments. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 29: 55-60.

BROADBENT, F.E. e T. NAKASHIMA, 1967. Reversion of fertilizer nitrogen in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 31: 648-652.

BROADBENT, F.E.; R.S. RAUSCHKOLB; K.A. LEWIS e G.Y. CHANG, 1980. Spatial variability of nitrogen-15 and total nitrogen in some virgin and cultivated soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 44: 524-532.

BURNS, R.C. e R.W.F. HARDY, 1975. *Nitrogen fixation in bacteria and higher plants*. Spring-Verlag. New York.

BURRIS, R.H. e L.E. MILLER, 1941. Application of ^{15}N to the study of biological nitrogen fixation. *Science*, 93: 114-115.

CHALK, P.M.; L.A. DOUGLAS e S.A. BUCHANAN, 1983. Use of ^{15}N enrichment of soil mineralizable N as a reference for isotope dilution measurements of biologically fixed nitrogen. *Can. J. Microbiol.*, 29: 1046-1052.

CHICHESTER, F.W., 1970. Transformation of fertilizer nitrogen in soil. II. Total and ^{15}N -labeled nitrogen of soil organo-mineral sedimentation fractions. *Plant and Soil*, 33: 437-456.

- CHICHESTER, F.W.; J.O. LEGG e G. STANFORD, 1975. Relative mineralization rates of indigenous and recently incorporated ^{15}N -labelled nitrogen. *Soil Sci.*, 120: 455-460.
- CORNFIELD, A.H., 1959. Mineralization during incubation of the organic nitrogen compounds in soils as related to soil pH. *J. Sci. Food Agr.*, 10: 27-28.
- DANCER, W.S.; L.A. PETERSON e G. CHESTERS, 1973. Ammonification and nitrification of N as influenced by soil pH and previous N treatments. *Soil Sci. Amer. Proc.*, 37: 67-69.
- DANIEL, R.M.; I.M. SMITH; J.A.D. PHILLIP; H.D. RADCLIFF; J.W. DROZD e A.T. BULL, 1980. Anaerobic growth and denitrification by *Rhizobium japonicum* and other rhizobia. *J. Gen. Microbiol.*, 120: 517-521.
- DELWICHE, C.C., 1970. The nitrogen cycle. *Sci. Am.*, 233: 136-146.
- DELWICHE, C.C. e P.L. STEYN, 1970. Nitrogen isotope fractionation in soils and microbial reactions. *Environ. Sci. Tech.*, 4: 929-935.
- DENMEAD, O.T.; J.R. FRENEY e J.R. SIMPSON, 1976. A closed ammonia cycle within a plant canopy. *Soil Biol. Biochem.*, 8: 161-164.
- DOUGLAS, L.A.; A. RIAZI e C.J. SMITH, 1980. A semi-micro method for determining total nitrogen in soils and plant material containing

nitrite and nitrate. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 44: 431-433.

EDWARDS, A.P. e R.D. HAUCK, 1974. Nitrogen-15-depleted versus nitrogen-15-enriched ammonium sulfate as tracers in nitrogen uptake studies. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 38: 765-767.

ESKEW, D.L.; D.D. FOCHT e J.P. TING, 1977. Nitrogen fixation, denitrification and pleomorphic growth in a highly pigmented *Spirillum lipoferum*. *Appl. Environm. Microbiol.*, 34: 582-585.

EVANS, H.J. e L.E. BARBER, 1977. Biological nitrogen fixation for food and fiber production. *Science*, 197: 332-339.

FAO/IAEA, 1970. Rice fertilizer. Division of Atomic Energy in Agriculture. Tech. Rep. p. 108.

FIRESTONE, M.K., 1982. Biological denitrification. In: STEVENSON, F.J., Ed. *Nitrogen in agricultural soils*. Madison, American Society of Agronomy, 1982. p. 289-326.

FOCHT, D.D. e VERSTRAETE, 1977. Biochemical ecology of nitrification and denitrification. *Adv. Microbiol. Ecol.*, 1: 135-214.

FRENEY, J.R., 1971. Phosphate interference in the Devarda's alloy reduction method for nitrate. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 2: 479-484.

- FRENEY, J.R.; J.R. SIMPSON e O.T. DENMEAD, 1983. Volatilization of ammonia. *In: FRENEY, J.R. e J.R. SIMPSON, Eds. Gaseous loss of nitrogen from plant-soil systems.* Martinus Nyhoff and Dr. W. Junk Publishers. Netherlands. 1983. p. 1-32.
- FRIED, M. e L. MELLADO, 1977. A method for determining the amount of nitrogen fixed in the field using ^{15}N . *In: SYMP. LIMITATIONS AND POTENTIAL OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION IN THE TROPICAL, Brasília, 18-22 Julho. 1977.*
- FRISSEL, M.J. e J.A. VAN VEEN, 1978. Computer simulation of nitrogen behavior in soil. *In: NIELSEN, D.R. e J.G. McDONALD, Eds. Nitrogen in the environment.* Academic Press, New York, 1978. p. 145-162.
- GALBALLY, I.E. e R. WETSELAAR, 1981. Nitrogen in precipitation in South-East Asia and adjoining areas: a bibliography. *In: WETSELAAR, R. et alii, Eds. Nitrogen cycling in South-East Asian wet monsoonal ecosystems.* Australian Academy of Science, Canberra, p. 195-198.
- GALBALLY, I.E. e C.R. ROY, 1983. The fate of nitrogen compounds in the atmosphere. *In: FRENEY, J.R. e J.R. SIMPSON, Eds. Gaseous loss of nitrogen from plant-soil systems.* Martinus Nyhoff and Dr. W. Junk Publishers. Netherlands. 1983. p. 265-284.
- GAMBLE, T.N.; M.R. BETLACH e J.M. TIEDJE, 1977. Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33: 926-939.

GASSER, J.K.R., 1964. Fertilizer urea. *World Crops*, 3: 1-8.

GIBSON, A.H. e J.D. PAGAN, 1977. Nitrate effects on the nodulation of legumes inoculated with nitrate-reductase-deficient mutants of *Rhizobium*. *Plants*, 134: 17-22.

HARDY, R.W.F. e R.D. HOLSTEN, 1972. Global nitrogen cycling: pools, evolution, transformations, transfers, quantification, and research needs. In: GUARRAIA, L.J. e R.K. BALLENTINE, Eds. *The aquatic environment: microbial transformations and water management implications*. Environmental Protection Agency, EPA, 430/6-73-008, Washington, U.S.A. p. 87-132.

HARMS, H.; H.P. KOOPS e H. WEHRMANN, 1976. An ammonia-oxidizing bacterium, *Nitrosovibrio tenuis* nov. gen. nov. sp. *Arch. Microbiol.*, 108: 105-111.

HAUCK, R.D., 1971. Quantitative estimates of nitrogen cycle processes; concepts and reviews. In: IAEA. *Nitrogen-15 soil-plant studies*. Int. At. Energy Ag. Publ., 278: 68-80.

HAUCK, R.D. e J.M. BREMNER, 1976. Use of tracers for soil and fertilizer nitrogen research. *Adv. Agron.*, 28: 219-266.

HAUCK, R.D., 1981. Nitrogen fertilizer effects in nitrogen cycle processes. In: CLARK, F.E. e T. ROSSWAL, Eds. *Terrestrial nitrogen cycles*. Ecol. Bull. Swedish Natural Science Research Council, Stockholm, p. 551-562.

IAEA, 1983. *A guide to the use of nitrogen-15 and radioisotopes in studies of plant nutrition. Calculations and interpretation of data.* Vienna, IAEA. 65 p.

JANSSON, S.L., 1958. Tracer studies on nitrogen transformations in soil with special attention to mineralization - immobilization relationships. *K. Lantbrukshogsk. Ann.*, 24: 101-361.

JANSSON, S.L., 1963. Balance sheet and residual effects of fertilizer nitrogen in a six-year study with ^{15}N . *Soil Sci.*, 93: 31-37.

JANSSON, S.L. e J. PERSSON, 1982. Mineralization and immobilization of soil nitrogen. *In: STEVENSON, F.J., Ed. Nitrogen in agricultural soils.* Madison, American Society of Agronomy, 1982. p. 229-252.

JENKINSON, D.S., 1977. Studies on the decomposition of plant material in soil. V. The effects of plant cover and soil type on the loss of carbon from ^{14}C labelled ryegrass decomposing under field conditions. *J. Soil Sci.*, 28: 424-434.

JUNK, G. e H.I. SVEC, 1958. The absolute abundance of the nitrogen isotopes in the atmosphere and compressed gas from various sources. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 14: 234-243.

KANAMORI, T. e T. YASUDA, 1979. Immobilization, mineralization and the availability of the fertilizer nitrogen during the decomposition of

- the organic matters applied to the soil. *Plant and Soil*, 52: 219-227.
- KANAZAWA, S. e T. YONEYAMA, 1978. Determination of ^{15}N abundance of amino acids in soil hydrolysates. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 24: 153-155.
- KEENEY, D.R. e J.M. BREMNER, 1967. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 31: 34-39.
- KINJO, T.; Z.Z. MARCOS e O.M. JACOB, 1978. Produção de nitrato por incubação de amostras do horizonte Ap de solos da região canavieira de Piracicaba. *R. Bras. Ci. Solo*, 2: 98-103.
- KOOPS, H.P.; H. HARMS e H. WEHRMANN, 1976. Isolation of a moderate halophilic ammonia-oxidizing bacterium *Nitrosococcus mobilis* nov. sp. *Arch. Microbiol.*, 108: 277-282.
- KORTE, F., 1980. Chemical control of nitrification in soil nitrogen management. In: IAEA. *Seminar on isotope techniques in studies of the useful conservation and the pollutant potential of agricultural nitrogen residues*. Vienna, 25-29 Agosto, 1980. *Abstracts*. Vienna, p. 19. (IAEA-SR-48).
- KOWALENKO, C.G. e D.R. CAMERON, 1976. Nitrogen transformation in an incubated soil as affected by combinations of moisture content and temperature and adsorption-fixation of ammonium. *Can. J. Biol. Sci.*, 56: 63-70.

- KOWALENKO, C.G., 1978. Nitrogen transformations and transport over 17 months in field fallow microplots using ^{15}N . *Can. J. Soil Sci.*, 58: 69-76.
- KOWALENKO, C.G. e D.R. CAMERON, 1978. Nitrogen transformations in soil-plant systems in three years of field experiments using tracer and nontracer methods on an ammonium fixing soil. *Can. J. Soil Sci.*, 58: 195-208.
- KOWALENKO, C.G., 1981. Effect of immobilization on nitrogen transformations and transport in a field ^{15}N experiment. *Can. J. Soil Sci.*, 61: 387-395.
- LADD, J.N.; J.M. OADES e M. AMATO, 1981. Microbial biomass formed from ^{14}C , ^{15}N -labelled plant material decomposing in soil in the field. *Soil Biol. Biochem.*, 13: 119-126.
- LADD, J.N. e R.B. JACKSON, 1982. Biochemistry of ammonification. In: STEVENSON, F.J., Ed. *Nitrogen in agricultural soils*. Madison, American Society of Agronomy, 1982. p. 173-222.
- LEGG, J.O., 1970. Fate of fertilizer nitrogen applied to soils. Isotopes and radiation in investigation of fertilizer and water use efficiency. *Int. At. Energy Ag. Publ.*, 120: 146-160.
- LEGG, J.O.; F.W. CHICHESTER; G. STANFORD e V.H. DEMAR, 1971. Incorporation of ^{15}N -tagged mineral nitrogen into stable forms of soil organic nitrogen. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 35: 273-276.

- LEGG, J.O. e C. SLOGER, 1975. A tracer method for determining symbiotic nitrogen fixation in field studies. Proc. Int. Conf. Stable Isot., 2nd., 1975 (1976). p. 661-666.
- LENHARD, U. e G. GRAVENHORST, 1980. Evaluation of ammonia fluxes into the free atmosphere over Western Germany. *Tellus*, 32: 48-55.
- LIBARDI, P.L. e K. REICHARDT, 1978. Destino da uréia aplicada a um solo tropical. *R. bras. Ci. Solo*, 2: 40-44.
- MAGALHÃES, L.M.S.; C.A. NEYRA e J. DOBEREINER, 1978. Nitrate and nitrite reductase negative mutants of N₂-fixing *Azospirillum* spp. *Arch. Microbiol.*, 117: 247-252.
- MCGILL, W.B.; J.A. SHIELDS e E.A. PAUL, 1975. Relation between carbon and nitrogen turnover in soil organic fractions of microbial origin. *Soil Biol. Biochem.*, 7: 57-63.
- MAHENDRAPPA, J.K.; R.L. SMITH e A.T. CHRISTIANSON, 1966. Nitrifying organisms affected by climatic region in Western United States. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 30: 60-62.
- MAKAROV, B.N. e N.B. MAKAROV, 1976. Gaseous nitrogen losses from soil fertilizer. *Sov. Soil Sci.*, 8: 692-704.
- MALAVOLTA, E., 1976. *Manual de química agrícola. Nutrição de plantas e fertilidade do solo.* São Paulo, Ceres, p. 203-252.

- MALAVOLTA, E., 1981. *Manual de química agrícola. Adubos e adubação*. 3a. edição. São Paulo, Ceres, p. 31-95.
- MELLO, F.A.F.; M.O.C. BRASIL SOBRINHO; S. ARZOLLA; R.I. SILVEIRA; A. COBRANETTO e J.C. KIEHL, 1983. *Fertilidade do solo*. São Paulo, Nobel. 400 p.
- MEINTS, V.W. e G.A. PETERSON, 1972. Further evidence for the inability of the Kjeldahl total nitrogen method to fully measure indigenous fixed ammonium nitrogen in subsoils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 36: 434-436.
- MEINTS, V.W.; L.V. BOONE e L.T. KURTZ, 1975. Natural ^{15}N abundance in soil, leaves and grain as influenced by long-term additions of fertilizer N at several rates. *J. Environ. Qual.*, 4: 486-490.
- MEIRELLES, N.M.F.; P.L. LIBARDI e K. REICHARDT, 1980. Absorção e lixiviação de nitrogênio em cultura de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *R. bras. Ci. Solo*, 4: 83-88.
- MIKKELSEN, D.S.; S.K. DE DATTA e W.N. OBLEMEA, 1978. Ammonia volatilization losses from flooded rice soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 42: 725-730.
- MORRIL, L.G. e J.E. DAWSON, 1967. Patterns observed for the oxidation of ammonium to nitrate by soil organisms. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 31: 757-760.

MORRIS, G.F.; R.B. CARSON; D.A. SHEARER e W.T. JOPKIEWICZ, 1968.

Comparison of the automatic Dumas (Coleman model 29A Nitrogen Analyser II) and Kjeldahl methods for the determination of total nitrogen in agricultural materials. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 51: 216-219.

MYERS, R.J.K., 1975. Temperature effects on ammonification and

nitrification in a tropical soil. *Soil Biol. Biochem.*, 7: 83-86.

MYERS, R.J.K.; C.A. CAMPBELL e K.L. WEIER, 1982. Quantitative relationship between net nitrogen mineralization and moisture content of soils.

Can. J. Soil Sci., 62: 111-124.

NAUDÉ, S.M., 1930. The isotopes of nitrogen mass 15 and oxygen masses 18 and 17 and their abundance. *Phys. Rev.*, 36: 333-346, Apud *Chem. Abstr.*, 24: 5604.

NEYRA, C.A. e P. VAN BERKUM, 1977. Nitrate reduction and nitrogenase

activity in *Spirillum lipoferum*. *Can. J. Microbiol.*, 23: 306-310.

NEYRA, C.A.; J. DOBEREINER; R. LALANDE e R. KNOWLES, 1977. Denitrification

by N_2 -fixing *Spirillum lipoferum*. *Can. J. Microbiol.*, 23: 300-305.

NIELSEN, D.R.; J.W. BIGGAR e P.J. WIERENGA, 1982. Nitrogen transport

process in soil. In: STEVENSON, P.J., Ed. *Nitrogen in agriculture soils*. Madison, American Society of Agronomy. p. 423-448.

- NOMMIK, H., 1965. Ammonium fixation and other reactions involving a non enzymatic immobilization of mineral nitrogen in soil. *In: BARTHOLOMEW, W.V. e F.E. CLARK, Eds. Soil nitrogen. Agronomy 10. Amer. Soc. Agron., Madison, Wis., USA. p. 198-258.*
- NOMMIK, H. e K. VAHTRAS, 1982. Retention and fixation of ammonium and ammonia in soils. *In: STEVENSON, F.J., Ed. Nitrogen in agricultural soils. Madison, American Society of Agronomy. p. 123-171.*
- NORMAN, A.G. e C.H. WERKMAN, 1943. The use of ^{15}N in determining N recovery from plant materials decomposing in soil. *J. Amer. Soc. Agron., 35: 1023-1075.*
- NYBORG, M. e P.B. HOYT, 1978. Effect of soil acidity and liming on mineralization of soil nitrogen. *Can. J. Soil Sci., 58: 331-338.*
- PARK, K.; D.W. HOOD e H.T. ODUM, 1958. Diurnal pH variations in Texas bays and its application of primary production estimates. *Publ. Inst. Mar. Sci. Univ. of Texas, 5: 47-64.*
- PAUL, E.A. e J.A. VAN VEEN, 1979. The use of tracers to determine the dynamic nature of organic matter. *In: GASSER, J.K.R., Ed. Modelling nitrogen from farm wastes. Applied Science Publishers, Ltd., London. p. 75-132.*
- PARSONS, J.W.; J.N. LADD e M. AMATO, 1975. Mineralization and

transformation of ^{15}N -labelled plant residues in soil. *J. Sci. Food Agric.*, 26: 1426-1427.

PATRICK JR., W.H., 1982. Nitrogen transformations in submerged soils. In: STEVENSON, F.J., Ed. *Nitrogen in agricultural soils*. Madison, American Society of Agronomy. p. 449-465.

PAYNE, W.J., 1973. Reduction of nitrogenous oxides by microorganisms. *Bacteriol. Rev.*, 37: 409-452.

PRAT, P.F.; J.C. BARBER; M.L. CORRIN; J. GOERING; R.D. HAUCK; H.S. JOHNSTON; A. KLUTE; R.KNOWLES; D.W. NELSON; R.C. PICKETT e E.R. STEPHENS, 1977. Effect of increased nitrogen fixation on stratospheric ozone. *Climatic Change*, 1: 109-135.

RANZANI, G.; O. FREIRE e T. KINJO, 1966. Levantamento da carta de solos do município de Piracicaba. Piracicaba, ESALQ/USP. 85 p. (mimeografado).

REICHARDT, K.; P.L. LIBARDI; R.L. VICTÓRIA e G.P. VIEGAS, 1979. Dinâmica do nitrogênio num solo cultivado com milho. *R. bras. Ci. Solo*, 3: 17-20.

RENNIE, D.A.; E.A. PAUL e L.E. JOHNS, 1976. Natural nitrogen-15 abundance of soil and plant samples. *Can. J. Soil Sci.*, 56: 43-50.

RIGAUD, J.; F.J. BERGERSEN; G.L. TURNER e R.M. DANIEL, 1973. Nitrate dependent acetylene-reduction and nitrogen fixation by soybean bacteroids. *J. Gen. Microbiol.*, 77: 137-144.

- RODRIGUES, M.B., 1983. Volatilização, distribuição e nitrificação da amônia proveniente da aplicação de uréia no solo. Piracicaba, ESALQ/USP. 84 p. (Dissertação de Mestrado).
- ROLSTON, D.E.; M. FRIED e D.A. GOLDHAMER, 1976. Denitrification measured directly from nitrogen and nitrous oxide gas fluxes. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 40: 259-266.
- RUSCHEL, A.P. e S.M.T. SAITO, 1977. Efeito da inoculação de *Rhizobium*, nitrogênio e matéria orgânica na fixação simbiótica de nitrogênio em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *R. bras. Ci. Solo*, 1: 21-24.
- RUSCHEL, A.P.; E. MATSUI; J. ORLANDO Fº e V.C. BITTENCOURT, 1978. Closed system nitrogen balance studies in sugarcane utilizing 15-ammonium sulphate. *Proc. Int. Soc. Sugarcane Tech., XVI Congress*, 2: 1539-1547.
- RUSSEL, E.W., 1973. *Soil conditions and plant growth*. 10th. ed. Longman. London.
- RYDEN, J.C. e L.D. LUND, 1980. Nature and extent of directly measured denitrification losses from some irrigated vegetable crop production units. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 44: 505-511.
- RYDEN, J.C. e D.E. ROLSTON, 1983. The measurement of denitrification. In: FRENEY, J.R. e J.R. SIMPSON, Eds. *Gaseous loss of nitrogen from plant-soil systems*. Martinus Nyhoff and Dr. W.Junk Publishers. Netherlands. p. 92-180.

- SARATHCHANDRA, S.V., 1978. Nitrification activities and the changes in the populations of nitrifying bacteria in soil perfused at two different H-ion concentrations. *Plant Soil*, 50: 99-111.
- SCHIMIDT, E.L., 1982. Nitrification in soil. In: STEVENSON, F.J., Ed. *Nitrogen in agricultural soils*. Madison, American Society of Agronomy. p. 253-288.
- SCHUMAN, T.E.; M.A. STANLEY e D. KNUDSEN, 1973. Automated total nitrogen analysis of soil and plant samples. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 37: 480-481.
- SHEARER, G.B.; D.H. KOHL e B. COMMONER, 1974. The precision of determination of the natural abundance of nitrogen-15 in soil, fertilizers, and shelf chemicals. *Soil Sci.*, 118: 308-316.
- SODERLUNG, R. e B.H. SVENSSON, 1976. The global nitrogen cycle. In: SVENSSON, B.H. e R. SODERLUNG, Eds. *Nitrogen, phosphorus and sulphur-global cycles*. Ecol. Bull, n° 22. Sci. Committee on Problems of the Environment. Stokholm. p. 23-73.
- SOLLINS, P.; G. SPYCHER e C.A. GLASSMAN, 1984. Net nitrogen mineralization from light-and heavy fraction forest soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.*, 16: 31-37.
- STANFORD, G.; J.O. LEGG e F.W. CHICHESTER, 1970. Transformation of

fertilizer nitrogen in soil. 1. Interpretations based on chemical extractions of labelled and unlabelled nitrogen. *Plant and Soil*, 33: 425-435.

STANFORD, G. e E. EPSTEIN, 1974. Nitrogen mineralization-water relations in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 38: 103-107.

STARR, J.L.; F.E. BROADBENT e P.R. STOUT, 1974. A comparison of ^{15}N -depleted and ^{15}N -enriched fertilizers as tracers. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 38: 266-267.

STEVENSON, F.J., 1982. Origin and distribution of nitrogen in soil. In: STEVENSON, F.J., Ed. *Nitrogen in agricultural soils*. Madison, American Society of Agronomy. p. 1-42.

STEWART, B.A. e L.K. PORTER, 1963. Inability of the Kjeldahl method to fully measure indigenous fixed ammonium in some soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 27: 41-43.

STEWART, B.A.; L.K. PORTER e F.E. CLARK, 1963. The reliability of a micro-Dumas procedure for the determining total nitrogen in soil. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 27: 377-380.

STEWART, B.A.; L.K. PORTER e W.E. BEARD, 1964. Determination of total nitrogen and carbon in soils by a commercial Dumas apparatus. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 28: 366-368.

STEWART, B.A., 1970. A look at agricultural practices in relation to nitrate accumulations. In: ENGELSTAD, O.P., Ed. *Nutrient mobility in soils: accumulation and losses*. Soil Sci. Soc. Am., Madison, p. 47-60.

STREBEL, O.; M. RENGER e W. GIESEL, 1975. Vertikale wasserbewegung und nitratverlagerung unterhalb des wurzebraums. *Mitt. Dtsch. Bodenkd. Ges.*, 22: 277-286.

TAKAHASHI, D.T., 1968. Fate of ammonium and nitrate fertilizers in lysimeter studies with ^{15}N . *Hawaiian Planters' Record*, 58: 1-11.

TERMAN, G.C., 1979. Volatilization losses of nitrogen as ammonia from surface-applied fertilizers, organic amendments, and crop residues. *Adv. Agron.*, 31: 189-223.

UREY, H.C.; M. FOX; J.R. HUFFMAN e H.G. THODE, 1937. Concentration of ^{15}N by chemical exchange reactions. *J. Am. Chem. Soc.*, 59: 1407-1408. Apud *Chem. Abstr.*, 31: 5673.

URQUIAGA C., S. 1982. Dinâmica do nitrogênio no sistema solo-planta na cultura de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivar carioca. Piracicaba, ESALQ/USP, 154 p. (Tese de Doutorado).

USDA, 1975. *Soil taxonomy: a basic system of soil classification to making and interpreting soil surveys*. Washington. 754 p. (Agriculture Handbook, nº 436).

- VALLIS, I., 1983. Uptake by grass and transfer to soil of nitrogen from ^{15}N -labelled legume materials applied to a rhodes grass pasture. *Aust. J. Agric. Res.*, 34: 367-376.
- VLEK, P.L.G. e E.T. CRASWEL, 1979. Effect of nitrogen source and management on ammonia volatilization losses from flooded rice-soil systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 43: 352-358.
- WATSON, S.W., 1974. Gram-negative chemolithotrophic bacteria. In: BUCHANAN, E. e N.E. GIBBONS, Eds. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 8th. ed. The Williams & Wilkins Co., Baltimore. p. 450-456.
- WELLMAN, B.P.; F.O. COOK e H.R. KROUSE, 1968. Nitrogen-15 microbial alteration in abundance. *Science*, 161: 269-270.
- WETSELAAR, R. e G.D. FARQUHAR, 1980. Nitrogen losses from tops of plants. *Adv. Agron.*, 33: 263-302.
- YOUNGDAHL, L.J.; E.R. AUSTIN; P.L.G. VLEK e E.T. CRASWEL, 1980. The evaluation of the loss potential of modified urea fertilizers for rice using ^{15}N . In: IAEA. *Seminar on isotope techniques in studies of the useful conservation and the pollutant potential of agricultural nitrogen residues*. Vienna, 25-29 de agosto. *Abstracts*. Viena, p. 23. (IAEA-SR-48).

APÉNDICE

TABELA 13 - Teores (mg), calculados isotopicamente de N-amoniacoal e N-nitrato provenientes da matéria orgânica vegetal de milho - ¹⁵N adicionada (5,53 mg N/kg solo) ao solo, determinados em dez épocas de amostragem em cada lisímetro.

Período de Incubação (dias)	N - Amoniacoal				N - Nitrato			
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4
0	595,8	439,3	588,7	313,1	1246,0	1217,6	983,1	1105,0
15	377,5	304,9	266,6	180,8	1330,4	1513,8	1249,9	1142,3
30	222,4	60,9	21,1	68,5	936,9	2092,0	982,8	881,5
45	198,4	55,9	27,9	27,2	1702,7	1275,9	1165,2	1606,4
60	50,0	49,2	50,5	65,8	1944,5	5035,3	2870,5	3003,9
75	53,4	59,7	89,7	104,7	2112,9	3575,9	1575,7	1775,7
90	35,2	35,2	61,3	36,0	1203,6	2038,7	1559,9	1069,6
105	42,6	50,7	44,2	46,8	2129,4	3003,9	2643,8	1996,8
135	38,4	65,6	45,0	40,8	1730,0	3364,7	1957,7	2041,1
165	18,3	0,1	60,2	0,1	2492,7	3098,5	2843,8	2297,7

TABELA 14 - Teores (mg), calculados isotopicamente de N-amoniacoal e N-nitrato provenientes do fertilizante sulfato de amônia-¹⁵N adicionado (5,53 mg N/kg solo) ao solo, determinados em dez épocas de amostragem em cada lisímetro.

Período de Incubação (dias)	N - Amoniacoal				N - Nitrato			
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4
0	5483,5	11987,4	10026,9	6261,9	3245	2037	1767	1493
15	255,3	555,7	158,0	593,6	3574	4592	2247	3363
30	156,1	144,7	76,7	27,6	5198	4993	4090	3843
45	22,7	25,1	24,1	18,1	2107	2482	3369	4526
60	147,2	177,4	200,9	164,1	8120	6133	7815	6342
75	89,8	142,3	81,3	62,3	4938	7851	6507	5210
90	39,4	46,9	115,4	52,1	2488	3237	3286	2276
105	50,6	43,4	61,6	45,6	3147	4511	3338	4756
135	137,6	54,5	89,7	45,5	3226	4634	3907	2383
165	0,4	0,4	0,4	0,4	2943	6008	4434	3946

TABELA 15 - Teores totais (g), calculados isotopicamente de N-total (orgânico + mineral), provenientes do fertilizante sulfato de amônia - ^{15}N e matéria orgânica - ^{15}N , adicionados (5,53 mg N/kg solo) ao solo e determinados em dez épocas de amostragem em cada lisímetro.

Período de Incubação (dias)	Fertilizante ($^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$				Matéria Orgânica - ^{15}N			
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4
0	13,16	17,06	22,68	13,03	13,11	16,74	12,81	15,02
15	14,22	16,40	16,89	13,50	10,81	11,99	10,22	8,58
30	11,63	19,17	13,43	23,43	11,06	12,47	12,88	7,58
45	15,76	12,53	13,11	23,15	13,89	13,94	11,38	11,63
60	13,64	13,06	13,44	13,60	15,03	12,74	10,90	11,15
75	13,88	16,42	13,84	16,08	7,82	22,44	13,39	18,17
90	18,75	17,92	7,34	12,13	14,60	18,13	12,46	16,24
105	11,58	13,82	9,17	11,68	14,31	15,14	13,58	13,64
135	8,28	11,88	8,43	14,57	10,71	10,81	10,21	11,30
165	6,82	14,27	12,26	10,24	12,81	14,70	15,41	14,30