

BALANÇO DE NITROGÊNIO EM QUATRO GRAMÍNEAS DO GÊNERO *BRACHIARIA*¹

MARIA DE FÁTIMA LOUREIRO² • ROBERT MICHAEL BODDEY³

RESUMO - Um estudo de balanço de N foi realizado com quatro espécies de *Brachiaria*: *B. decumbens*, *B. humidicola*, *B. radicans* e *B. ruziziensis*. As plantas cresceram em vasos de dez litros, em dois solos diferentes (Latossolo Vermelho-Escuro e Planossolo), adubados com sulfato de amônio marcado com 15-N. Tratamentos com e sem molibdênio (Mo) foram também utilizados. As plantas foram colhidas cinco vezes durante um período de quatorze meses, e não houve efeito significativo da adubação com Mo. Não houve diferença significativa no acúmulo de N total no tecido aéreo das diferentes gramíneas durante as cinco colheitas, embora *B. humidicola* tenha acumulado mais N nas raízes que as outras espécies. O balanço de N total (N total final no solo + N no material vegetal - N total inicial no solo e fertilizante) das quatro espécies crescidas no Planossolo foi positivo, embora não significativamente. O enriquecimento de 15-N das raízes de *B. humidicola* foi significativamente menor que o das raízes das outras espécies, indicando uma possível entrada de N fixado biologicamente para as raízes desta espécie. Os valores percentuais para recuperação total de N - fertilizante no Planossolo (N - fertilizante no solo + N - fertilizante recuperado pela planta) foram: 49,5, 53,0, 56,6 e 58,0, para *B. radicans*, *B. decumbens*, *B. humidicola* e *B. ruziziensis*, respectivamente. Nos vasos sem planta, mais de 90% do fertilizante marcado foi perdido no Planossolo, o que demonstrou a importância da presença de plantas na retenção do N no solo.

Termos para indexação: fixação biológica de N, 15-N.

NITROGEN BALANCE ON FOUR GRASSES OF THE GENUS *BRACHIARIA*

ABSTRACT - A N balance study was performed on four species of *Brachiaria*: *B. decumbens*, *B. humidicola*, *B. radicans* and *B. ruziziensis*. The plants were grown in ten-litre pots in two different soils (a Dark-Red Latosol and Planosol) amended with 15-N labelled ammonium sulphate. Fertilizer treatments with and without molybdenum (Mo) were also imposed. The plants were harvested five times over a period of 14 months and there were no significant differences in the total N accumulation in the aerial tissue of the different grasses over all five harvests, although *B. humidicola* accumulated more N in the roots than the other species. The total N balances (total final N in soil + N in plant material - total initial N in soil and fertilizer) of all four species grown in the Planosol were positive, although not significantly. The 15-N enrichment of the roots of *B. humidicola* was significantly lower than that of the other species, indicating a possible input of biologically fixed N to the roots of these species. The percentage values for the recovery of fertilizer in the Planosol (N - fertilizer in soil + N fertilizer recovered by plant) were: 49,5, 53,0, 56,6 and 58,0 for *B. radicans*, *B. decumbens*, *B. humidicola* and *B. ruziziensis*, respectively. In unplanted pots over 90% of the labelled fertilizer was lost in the Planosol, which demonstrated the importance of the presence of the plants in the retention of N in the soil.

Index terms: N biological fixation 15 - N.

INTRODUÇÃO

Os resultados dos estudos sobre a economia de nitrogênio em gramíneas forrageiras conduzidos a longo prazo, em condições de campo, têm indica-

do um acúmulo considerável de N mesmo sob condições de clima temperado (White et al. 1945, Smith et al. 1954). Não há relatos, porém, sobre estudos a longo prazo em regiões tropicais, e os estudos a curto prazo (Jaiyebo & Moore 1963, Greenland 1977, Dart & Wani 1982) sugerem que há um acúmulo de N em pastagens contendo apenas gramíneas. Esses resultados indicam que pode haver uma contribuição considerável da fixação biológica do N (FBN) para a nutrição nitrogenada das gramíneas forrageiras, e essa idéia é reforçada pelos numerosos relatos de atividade da nitrogenase (redução do acetileno) associada com as raízes de gramíneas (Döbereiner et al. 1972, Balandreau

¹ Aceito para publicação em 9 de outubro de 1987. Parte da tese de mestrado, apresentada pela autora ao Dep. de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

² Enga. - Agra Profª, Dep. de Agron., Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), CEP 78 000 Cuiabá, MT.

³ Eng. - Agr., Consultor IICA/EMBRAPA World Bank Project - Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Biologia do Solo (UAPNPBS), CEP 23851 Seropédica, RJ.

& Villemain 1973, Nelson et al. 1976, Neyra & Döbereiner 1977, Weier 1980).

De-Polli et al. (1977), utilizando N-2 gasoso enriquecido com 15-N, confirmaram que o N proveniente da fixação biológica do N associada com as raízes poderia ser incorporado nos tecidos da raiz e da parte aérea das gramíneas *Paspalum notatum* cv. Batatais e *Digitaria decumbens*. Mais recentemente, Boddey et al. (1983), utilizando a técnica de diluição isotópica de 15-N, demonstraram que a gramínea *P. notatum* cv. Batatais conseguiu obter aproximadamente 10% do seu N (20 kg N. ha⁻¹. ano⁻¹) da FBN. Usando-se essa mesma técnica foi observado que *Brachiaria humidicola* e *B. decumbens* foram capazes de obter 30 a 40% de seu N da FBN, correspondendo, respectivamente, a 30 e 45 kg de N. ha⁻¹. ano⁻¹ (Boddey & Victoria 1986).

Experimentos têm indicado que a FBN pode ser controlada por diversos fatores, entre eles o molibdênio (Mo), o qual, além da importância como micronutriente, é um elemento constituinte da estrutura das enzimas nitrogenase e nitrato redutase (Evans & Russel 1971, Smith 1977), as quais estão intimamente relacionadas com os processos de fixação biológica e assimilação do N respectivamente. Neste sentido, Miranda et al. (1985) demonstraram que a adubação com Mo em *B. decumbens* aumentou significativamente a produção de matéria seca, o conteúdo de proteína bruta e a população de *Azospirillum*.

Neste trabalho, procurou-se elaborar um estudo em vasos, usando balanço de N com 15-N, e adubações com e sem Mo, em espécies de *Brachiaria*, a fim de entender os mecanismos da técnica de diluição isotópica, verificar o efeito do Mo no processo de FBN, e confirmar a contribuição da fixação de N₂ para a nutrição dessas gramíneas.

MATERIAL E MÉTODOS

Solos

No experimento foram utilizados dois tipos de solo: Latossolo Vermelho-Escuro (LVE), coletado na região de Cuiabá, MT, e Planossolo série Ecologia, coletado na área do campo experimental da EMBRAPA-UAPNPBS, Seropédica, RJ. Uma descrição das propriedades químicas destes solos é mostrado na Tabela 1.

Plantas

Foram usadas as seguintes espécies de braquiária: *Brachiaria decumbens* Stapf. Prain. Fl. cv. IRI 700 *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweickhardt. cv. IRI 409. *Brachiaria radicans* Napper cv. IRI 442. *Brachiaria ruziziensis* German & Eurard. cv. Kennedy (CPI 30623).

Delineamento experimental e sistema de cultivo

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com cinco repetições, utilizando-se parcelas subdivididas, com solos nas parcelas e cultivares x molibdênio nas subparcelas.

Como tratamentos, utilizaram-se quatro espécies de *Brachiaria* e um controle sem planta, dois tipos de solos e duas adubações; completa e completa menos molibdênio. Na fase inicial do experimento (Março 1982 a Setembro 1982), os vasos foram colocados em mesas fora da casa de vegetação; porém, com o início das chuvas, que dificultou o controle do sistema de irrigação, efetuou-se a transferência dos vasos para casa de vegetação, onde permaneceram até o término do período experimental (Maio 1983).

Preparo do solo e irrigação

O solo secado ao ar foi passado em peneira com malha de 2 mm. A curva da neutralização do solo foi determinada efetuando-se a calagem com calcário dolomítico (CaO = 30,1%, MgO = 17,6%, PRNT = 85,4 para elevar o pH para 6,6).

O solo foi, então, rigorosamente homogeneizado e colocado em vasos de plástico de dez litros, a saber: Latossolo Vermelho-Escuro, 6,5 kg/vaso; Planossolo série Ecologia, 10,0 kg/vaso. Estes foram, então, distribuídos ao acaso, nos respectivos blocos.

Durante todo o período experimental, procurou-se manter a umidade do solo próximo à capacidade de campo, através de irrigação pelo sistema de filtros (Saito et al. 1984) (Fig. 1). O método consiste em adaptar filtros de porcelana (vela de filtro d'água doméstico) no fundo do vaso, conectados através de tubulação flexível a um reservatório de água do nível constante. A tensão da água no filtro foi obtida através da diferença de altura entre o vaso e o reservatório. Devido à evapotranspiração, a tensão da água no solo é maior que a tensão no filtro. Para evitar excesso de evaporação cobriu-se a superfície do solo com pedaços de isopor. Adicionaram-se, ainda, ao isopor, pedaços de plástico de coloração preta, para diminuir a luminosidade, evitando-se, assim, o crescimento de cianobactérias, que poderiam incorporar N ao sistema, pela fixação biológica.

Plantio e desbaste

O plantio foi efetuado em Março 1982. Foram utilizadas mudas coletadas de experimentos da EMBRAPA-UAPNPBS e selecionadas ao acaso. Nesta fase, efetuou-se coleta de amostras para análise de N total.

Foram plantadas seis mudas por vaso. Quinze dias após o plantio, efetuou-se o desbaste, sendo mantidas duas mudas por vaso. As quatro mudas retiradas foram submetidas a análise de N total.

TABELA 1. Características químicas do Latossolo Vermelho-Escuro e do Planossolo série Ecologia

Solo	pH	Al ³⁺	Ca ²⁺ + Mg ²⁺ me/100g TFSA	K ⁺	Na ⁺	*P	N %
						assimilável ppm	
Lat. Vermelho-Escuro	5,4	0,76	0,32	0,08	0,05	1	0,144
Plan. série Ecologia	5,8	0,0	0,81	0,08	0,02	6	0,028

* extraído com solução 0,05 N em HCl e 0,025 N em H₂SO₄.

Adubação

Um mês após o plantio, aplicaram-se os nutrientes nas seguintes dosagens por kg de solo: Latossolo Vermelho-Escuro: 40 mg de P e 50 mg de K (KH₂PO₄), 4 mg de Cu (CuSO₄.5H₂O), 2 mg de Zn (ZnSO₄.7H₂O), 0,1 mg de B (H₃BO₃) e 0,2 mg de Mo (NaMoO₄.2H₂O); Planossolo série Ecologia: 20 mg de P (KH₂PO₄), 50 mg de K (KH₂PO₄ + KCl), 4 mg de Cu (CuSO₄.5H₂O), 2 mg de Zn (ZnSO₄.7H₂O), 0,1 de B (H₃BO₃), 15 mg de Mg (MgSO₄.7H₂O), 0,2 mg de Mo (Na₂MoO₄.2H₂O).

Como fonte de N, utilizou-se (NH₄)₂SO₄ marcado com 3,3765% de átomos de 15-N, em quantidade equivalente a 20 mg de N/kg de solo. A adubação nitrogenada foi parcelada em quatro aplicações: a primeira, feita dez dias após a aplicação dos outros fertilizantes, e as demais, efetuadas semanalmente.

Coletas

No período de maio de 1982 a maio 1983, efetuaram-se coletas com intervalos de três meses:

1. 13.05.82 (dois meses após o plantio)
2. 16.08.82
3. 22.11.82
4. 22.02.83
5. 23.05.83

As coletas foram efetuadas através do corte da parte aérea, rente ao solo, tendo-se o cuidado de coletar também fragmentos de folhas, inflorescências etc., que se encontravam na superfície do solo.

Após a última coleta todo o solo foi retirado do vaso, passado em peneira com malha de 2 mm, e o sistema radicular cuidadosamente separado, para, posteriormente, ser submetido a análise de N total.

Amostragem e preparo das amostras

Solo: Após a fase de preparo do solo, quando foi rigorosamente homogeneizado, três amostras compostas foram coletadas de cada vaso. Na fase final do experimento, após ter sido separado o sistema radicular, o solo foi submetido a homogeneização, retirando-se, então, outras três amostras (aproximadamente 100 g solo) de cada vaso.

Posteriormente, as amostras foram moídas (moinho de disco) e passadas em tamis de 100 mesh.

Planta: Todo o material coletado (parte aérea e sistema radicular) foi secado em estufa a 65°C, por 72 horas, pesado e moído a 40 mesh. Após intensa homogeneização, as amostras foram retiradas para análise de N total.

Análises de N e enriquecimento de 15-N

O solo e matéria vegetal foram analisados para N, usando-se a técnica com pré-digestão com liga de Devar-da (Liao 1981), conforme descrito por Loureiro (1985).

Ao material resultante da análise de N total adicionou-se excesso de ácido sulfúrico da titulação, e efetuou-se a evaporação em estufa a 90°C. As amostras secas foram remetidas para o Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), onde se determinou o enriquecimento isotópico de 15-N (% de átomos) em espectrômetro de massa Varian Mat modelo CH4.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Acúmulo de matéria seca e nitrogênio nas plantas

O Mo não interferiu significativamente na produção de matéria seca ou no acúmulo de N pelas plantas, em nenhum dos dois solos (dados não apresentados). Esta observação sugere que nenhum dos dois solos foi deficiente neste elemento, porque num experimento de campo, Miranda et al. (1985) registraram uma resposta à adubação com Mo de 19% da produção mensal de matéria seca em *B. decumbens*.

As gramíneas crescidas no Latossolo incorporaram, em média, 23% mais N que as crescidas no Planossolo (Tabela 2). Considerando que o Latossolo tinha um conteúdo de N (0,14% de N) cinco vezes maior que o Planossolo (0,028% de N), esta diferença é pequena.

A espécie *B. radicans* foi incluída no experimento como uma testemunha não fixadora, baseada nas evidências de baixa atividade de nitrogenase (Pereira et al. 1981), baixo acúmulo de N e alto enriquecimento de 15-N no estudo de diluição isotópica (Boddey & Victoria 1986). Nas coletas individuais, foram observadas algumas diferenças significantes entre o acúmulo de N na parte aérea pelas espécies (Fig. 2 e 3), mas o total de N acu-

TABELA 2. Nitrogênio total de *Brachiaria* spp, crescidas em dois solos durante 14 meses (cinco coletas) Médias de repetições (mg N. vaso⁻¹).

Espécie	Planossolo série Ecologia			Latossolo Vermelho-Escuro		
	Parte aérea	Raízes	Total	Parte aérea	Raízes	Total
<i>B. decumbens</i>	274,4	42,4 b	316,7	324,6	57,1 b	381,6 b
<i>B. humidicola</i>	284,6	100,5 a	385,1	325,5	115,5 a	441,0 a
<i>B. radicans</i>	262,7	76,8 ab	339,4	339,8	84,8 ab	424,4
<i>B. ruziziensis</i>	272,8	61,7 ab	334,5	325,5	78,2 ab	403,3
	ns	**	ns	ns	**	*

As médias nas colunas com a mesma letra não diferem estatisticamente, segundo o teste de Duncan;

* diferença significativa ao nível de $P < 0,05$;

** diferença significativa ao nível de $P < 0,01$;

ns = não-significativo.

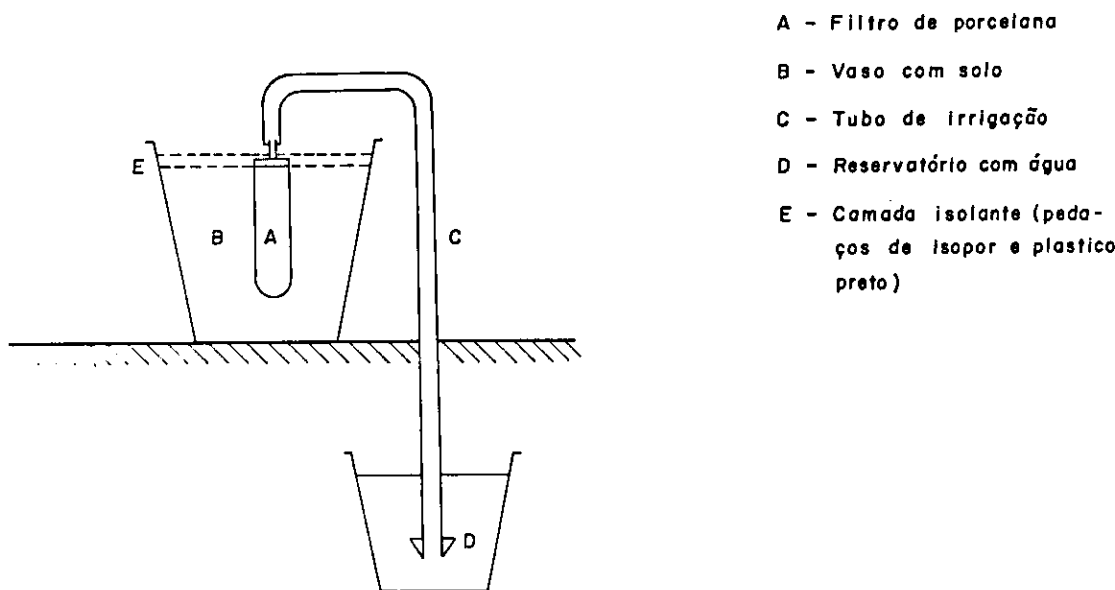


Fig. 1. Diagrama do sistema de irrigação, utilizando filtro de porcelana.

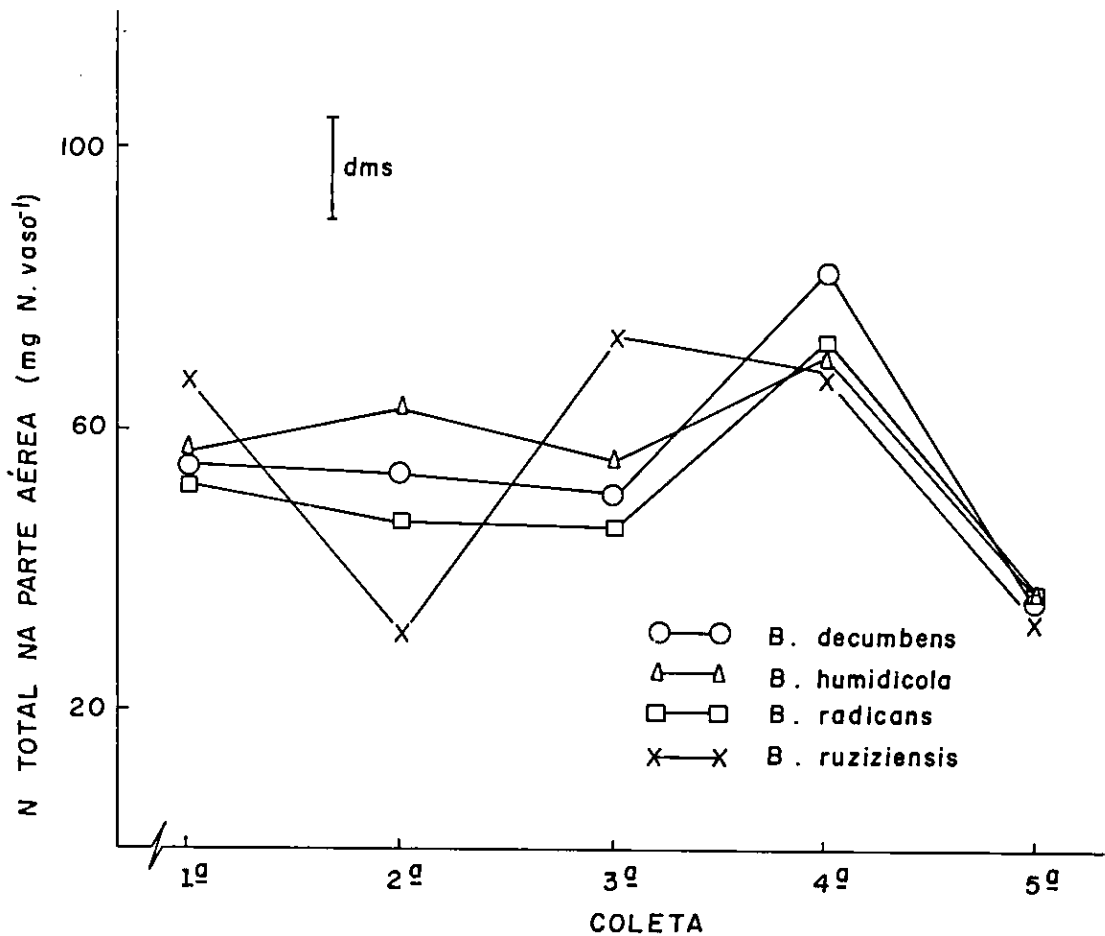


Fig. 2. Variação de N total da parte aérea, de *B. decumbens*, *B. humidicola*, *B. radicans* e *B. ruziziensis*, crescidas em Planossolo série Ecologia, em cinco coletas. Teste de Tukey dms ao nível de $p < 0,05$.

mulado durante todo experimento não foi diferente (Tabela 2). Se a espécie *B. radicans* também neste estudo não obteve N de FBN, é provável que isso seja verdade para todas as quatro espécies. Entretanto, as raízes de *B. humidicola* acumularam mais N que as outras espécies, por causa do maior peso de matéria seca.

Balanço de nitrogênio

O balanço de N foi obtido pela diferença entre o N final do sistema (N final do solo + N total nas plantas) e o N inicial do sistema (N inicial do solo + N do adubo + N das mudas etc) (Tabela 3).

Nenhum dos balanços nos vasos plantados foi significativamente diferente de zero, ao nível de

probabilidade de 5%. Por esta razão, não foi possível concluir que houve alguma contribuição significativa de fixação biológica de N-2 a nenhuma das espécies de *Brachiaria* spp. estudadas neste experimento.

Em ambos os solos, os vasos não plantados perderam consideráveis quantidades de nitrogênio durante 14 meses. Perdas semelhantes têm sido observadas em diversos experimentos (Willis & Green 1948, Broadbent & Tusneem 1971, App et al. 1980, Ventura & Watanabe 1983). Todos estes trabalhos, porém, foram realizados em solos inundados.

As perdas de N registradas podem ter ocorrido através da lixiviação, desnitrificação ou volatili-

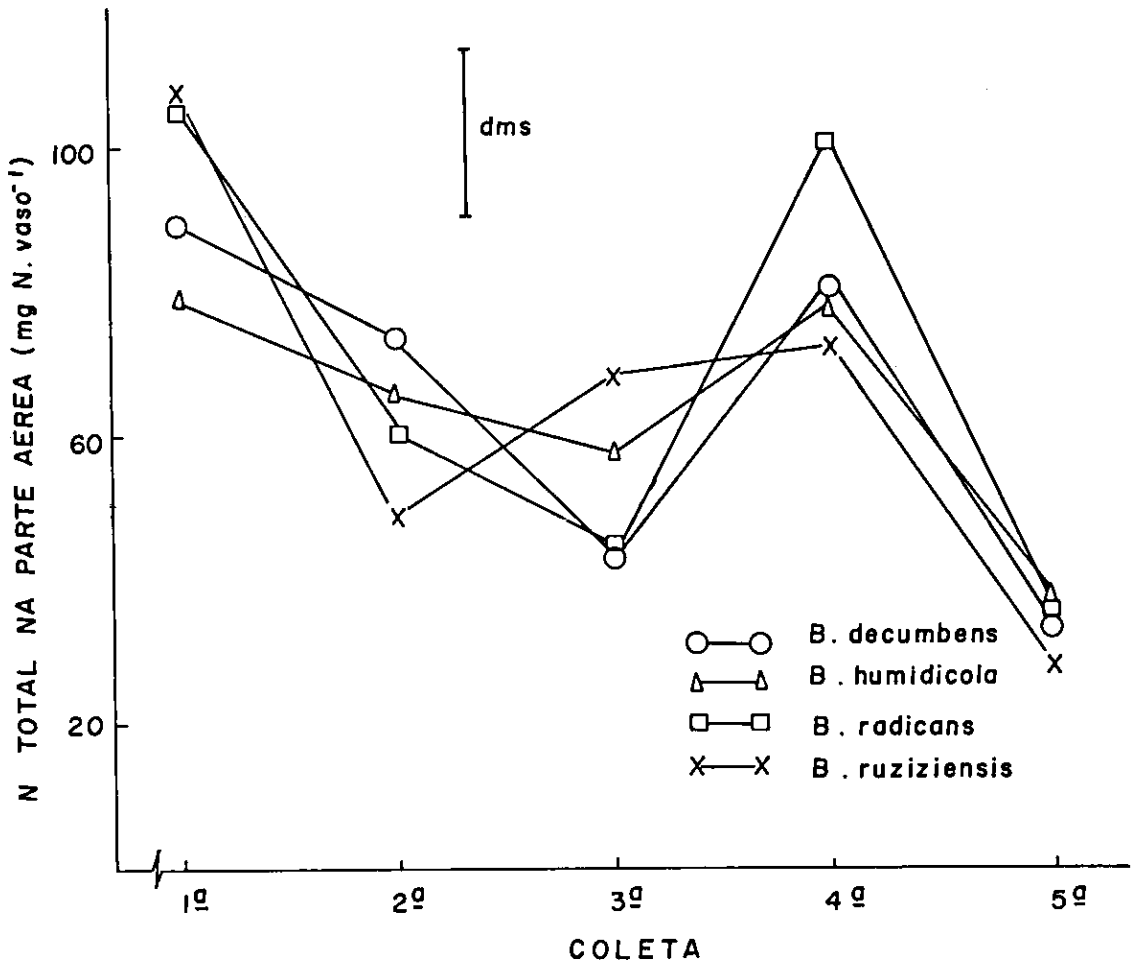


Fig. 3. Variação de N total da parte aérea, de *B. decumbens*, *B. humidicola*, *B. radicans* e *B. ruziziensis*, crescidas em Latossolo Vermelho-Escuro, em cinco coletas. Teste de Tukey dms ao nível de $p < 0,05$.

zação, sendo considerada importante a lixiviação, pois no início do experimento os vasos foram colocados em mesas fora de casa de vegetação, onde há possibilidade de que elevadas perdas tenham ocorrido por lavagem pela chuva.

Avaliação das fontes de erros no balanço de N

A possibilidade de se fazer, neste experimento, um balanço de N com algum significado, dependia da precisão da metodologia, já que o N total retirado do solo representa apenas 12% e 4,5% do N total no solo para o Planossolo e Latossolo, respectivamente. Deste modo, rigoroso critério de preci-

são foi adotado nas análises de N, visando minimizar esta fonte de erros. Amostragens correspondentes à fase inicial e final foram analisados simultaneamente (no mesmo bloco de digestão). Em cada bloco de digestão (com 40 tubos) foram incluídas duas subamostras de uma amostra-padrão de solo ou material vegetal. Estas amostras serviram para corrigir alguma variação entre os resultados obtidos de cada bloco de digestão, segundo o procedimento de App et al. (1980).

Foram estabelecidos os limites de 1% e 1,5% como erro padrão da média (três repetições), máximo tolerável para as amostras repetidas de planta e solo, respectivamente, sendo repetidas todas

TABELA 3. Balanço do Nitrogênio total em *Brachiaria* spp, crescidas em dois solos, durante 14 meses. Médias de cinco repetições (mg N. vaso¹).

Solo	Espécies	N final no solo	N total nas plantas ¹	N inicial no solo	N adicionado ao sistema ²	N final	N inicial	Balanço de N
Planossolo	<i>B. decumbens</i>	2.832	324	2.840	192	3.156 a	3.032	+ 124 a
	<i>B. humidicola</i>	2.869	379	2.896	170	3.247 a	3.066	+ 181 a
	<i>B. radicans</i>	2.806	329	2.942	147	3.135 a	3.089	+ 46 a
Ecologia	<i>B. ruziziensis</i>	2.817	331	2.967	165	3.149 a	3.133	+ 16 a
	Sem planta	2.788	—	2.907	200	2.788 b	3.107	-319 b
	CV %	4,78	11,2	5,33	—	4,36	8,39	—
		ns	ns	ns	—	—	ns	—
Latossolo	<i>B. decumbens</i>	8.931	385	9.275	122	9.316 A	9.397	- 81 A
	<i>B. humidicola</i>	9.092	450	9.528	100	9.542 A	9.628	- 86 A
	<i>B. radicans</i>	9.057	433	9.316	77	9.490 A	9.393	+ 97 A
Vermelho-Escuro	<i>B. ruziziensis</i>	9.132	403	9.279	95	9.535 A	9.375	+ 161 A
	Sem planta	8.946	—	9.269	130	8.945 B	9.399	454 B
	CV %	4,12	12,5	3,77	—	3,76	6,48	—
		ns	ns	ns	—	—	ns	—

¹ N acumulado nas cinco coletas

² N adicionado ao sistema = N do fertilizante - N retirado pelas plantas desbastadas (descontado o N inicial das mudas). As médias nas colunas com a mesma letra (minúscula para Planossolo e maiúscula para Latossolo) não diferem estatisticamente, segundo o teste de Duncan ao nível de $P < 0,05$. ns = não-significativo.

as análises com erros maiores. Assim sendo, a maior causa de variação entre repetições ficam sendo os erros de amostragem do solo.

Como foram utilizadas elevadas quantidades de solo, encontrou-se grande dificuldade para efetuar a homogeneização de todo o solo do experimento. Para evitar o problema, homogeneizou-se o solo por bloco, o que deve ter contribuído para elevação da variação entre os blocos.

Com a finalidade de identificar as fontes de erros que influenciaram no estudo de balanço de N, compararam-se os coeficientes de variação (Tabela 4) das percentagens de N no solo. Em ambos os solos, as fontes de variação tiveram comportamento semelhante, sendo que a maior variação ocorreu entre vasos. As variações de amostras dentro de vasos e subamostras dentro de amostras foram menores, sendo esta última significativamente inferior às demais. Isto indica que a variação é fortemente influenciada pelo volume do solo analisado.

Como no cálculo de balanço N se utilizaram valores de N total no solo, na fase inicial e final, no mesmo vaso, além dos valores do N total nas plantas, o erro do balanço é a soma de todos os erros

individuais. O maior erro no balanço de N num vaso individual foi entre as amostras dentro de vaso, e para minimizar essas variações em futuros trabalhos recomenda-se aumentar o número de vasos (repetições) e intensificar a homogeneização ao máximo.

Enriquecimento de 15-N

Os dados de enriquecimento de 15-N na parte aérea demonstram que houve, em média, uma queda de, aproximadamente, 1,6 para 0,15% no Planossolo, e de 1,3 para 0,17% átomos de 15-N em excesso no Latossolo (Tabela 5), durante os 14 meses de crescimento das plantas. Esta diferença demonstra claramente que o N disponível no solo não teve uma marcação constante com o tempo, e portanto, para se efetuar uma comparação, as quatro gramíneas deveriam ter um padrão de absorção muito similar, durante o ciclo da planta. Como as curvas de absorção (Fig. 2 e 3) variaram entre as quatro espécies, os valores de 15-N podem ser atribuídos a diferenças no padrão de absorção. Em ambos os solos, o enriquecimento

TABELA 4. Coeficiente de variação da percentagem de nitrogênio no solo, entre vasos do mesmo tratamento, entre amostras do mesmo vaso e entre subamostras dentro das amostras. Médias de cinco tratamentos (%).

Fonte de Variação	Planossolo série Ecologia		Latossolo Vermelho-Escuro	
	Inicial	Final	Inicial	Final
Vaso	26,08	20,06	17,02	12,52
Amostra dentro do vaso	12,89	6,56	5,23	8,46
Subamostra dentro da amostra	1,71	3,32	1,32	3,28

de 15-N (média ponderada das cinco coletas) em *B. radicans* foi menor (significativamente no Latossolo) que o das outras gramíneas. Portanto, é possível interpretar este resultado como uma contribuição de N não marcado derivado da atmosfera via FBN. Porém, o fato de o balanço de N para esta espécie ter sido menor que o das outras gramíneas, e a evidência de outros estudos (Pereira et al. 1981, Boddey & Victoria 1986), sugerem que outra explicação seja mais provável. Em geral, *B. radicans* recuperou menos N do solo nas primeiras coletas quando o enriquecimento de 15-N no N do solo era alto, e mais N nas últimas duas coletas quando o enriquecimento de 15-N era baixo.

O aumento de enriquecimento de N em todas as espécies no Latossolo, entre a primeira e segunda coleta (Tabela 5), deve-se ao fato de a primeira adição do N marcado ter ocorrido somente cinco semanas após o plantio.

Os dados de enriquecimento de 15-N em raízes (Tabela 6) demonstram que, em ambos os solos, *B. humidicola* apresentou os mais baixos valores, sendo que no Planossolo, a diferença em relação às outras espécies foi estatisticamente significativa. Enquanto esta espécie apresentou o maior rendimento de N (parte aérea + raízes) em ambos os solos, e o maior balanço de N positivo no Planossolo, é provável que nesta espécie tenha havido uma contribuição significativa de FBN nas raízes, mas este N fixado não foi translocado para a parte aérea da planta. Entretanto, não é possível tirar esta conclusão com confiança, diante das grandes variações de enriquecimento de 15-N, no solo, durante o experimento.

Recuperação de nitrogênio derivado do fertilizante

Em ambos os solos *B. radicans* apresentou os menores índices de recuperação de fertilizante (Tabela 7). No Planossolo, a análise estatística (parte aérea) indicou diferença significativa ($P < 0.05$) entre essa espécie e as demais. Observa-se a existência de uma relação entre os valores de recuperação do N do fertilizante e a quantidade de N total na parte aérea de *B. radicans* (Tabela 2). Na maioria das coletas (Figura 2), esta espécie acumulou menos N que *B. decumbens* e *B. humidicola*, somente atingindo valores equivalentes aos das demais nas últimas coletas, quando o nível de N marcado no solo já havia decrescido (Tabela 5). No Latossolo, esse tipo de relação não ocorreu, pois *B. radicans* foi a espécie que apresentou o maior valor de N total na parte aérea (Tabela 2). Observando, porém, a Figura 3, nota-se que 30% do N total da parte aérea dessa cultivar deve-se à produção obtida na quarta coleta, e nesta, os valores de 15-N eram muito baixos.

Com os dados de recuperação do N fertilizante pelas plantas, e do resíduo do fertilizante no solo após as cinco coletas, obteve-se a recuperação total do N do fertilizante (Tabela 8). A análise estatística indicou diferença significativa entre os valores de N recuperado por *B. ruzizensis*, *B. humidicola* e *B. decumbens* em relação a *B. radicans*.

Verificando-se os dados de N fertilizante no solo, nota-se que *B. ruzizensis* e *B. decumbens* foram responsáveis pelas menores perdas de N, o que pode ser atribuído ao fato de estas espécies, provavelmente, terem produzido maior quantidade de exsudatos pelas raízes, o que deve ter estimulado a imobilização do N e, conseqüentemente, reduzido as perdas.

TABELA 5. Percentagem de átomos de ^{15}N em excesso na parte aérea de *Brachiaria* spp, crescidas em dois solos durante 14 meses. Tratamento com molibdênio. Médias de cinco repetições.

Solo	Data de coleta	Espécies			
		<i>B. decumbens</i>	<i>B. humidicola</i>	<i>B. radicans</i>	<i>B. ruziziensis</i>
	13.05.82	1,689	1,597	1,656	1,602
Planossolo série	16.08.82	1,540	1,548	1,508	1,496
	22.11.82	0,694	0,763	0,601	0,872
Ecologia	22.02.83	0,248	0,224	0,173	0,249
	23.05.83	0,142	0,169	0,138	0,169
	Média ¹	0,851	0,889	0,797	0,881 ns
	13.05.82	0,967	0,886	1,086	0,885
Latossolo	16.08.82	1,347	1,406	1,304	1,316
Vermelho-Escuro	22.11.82	0,847	0,958	0,537	0,904
	22.02.83	0,328	0,333	0,158	0,238
	23.05.83	0,145	0,245	0,152	0,146
	Média ¹	0,727 ab	0,766 a	0,648 b	0,698 ab

As médias nas linhas horizontais com a mesma letra não diferem estatisticamente, segundo o teste de Duncan ao nível de $P < 0,05$; ns = não-significativo.

¹ Média ponderada

TABELA 6. Percentagem de átomos de ^{15}N em excesso em raízes de *Brachiaria* spp, crescidas em dois solos durante 14 meses. Tratamento com molibdênio. Médias de cinco repetições.

Espécies	Solo	
	Planossolo série Ecologia	Latossolo Vermelho-Escuro
<i>B. decumbens</i>	0,554 a	0,488
<i>B. humidicola</i>	0,430 b	0,472
<i>B. radicans</i>	0,550 a	0,486
<i>B. ruziziensis</i>	0,622 a	0,518
		ns

As médias nas colunas com a mesma letra não diferem estatisticamente, segundo o teste de Duncan ao nível de $P < 0,05$.

No tratamento sem plantas, uma maior proporção de fertilizante foi perdido (91,6%), o que justifica o balanço negativo encontrado para esse tratamento, e demonstra a importância das plantas na retenção do N no solo, quer absorvendo o N inorgânico, convertendo-o em compostos orgânicos,

quer liberando substâncias orgânicas (exsudato) para o solo e estimulando, com isso, a imobilização do N.

O ganho líquido de N inclui tanto algum N proveniente da fixação biológica, quanto o N mineral proveniente da atmosfera com as chuvas, bem como qualquer perda de N ocorrida no sistema. Como neste estudo se utilizou fertilizante nitrogenado marcado com ^{15}N , não só foi possível obter informações sobre o aproveitamento e recuperação do fertilizante, mas também puderam ser estimadas as perdas de N-fertilizante. Com a quantificação destas perdas de N-fertilizante (N fertilizante aplicado - N fertilizante recuperado) e sua adição aos valores de balanço de N total (Tabela 3), obteve-se o "balanço corrigido" de N total.

Observa-se que em todos os tratamentos com planta houve acréscimo de N ao sistema, mas ainda com esta correção de balanço de N nenhuma cultivar apresentou um balanço positivo significativo estatisticamente (Tabela 8). Um estudo usando a técnica de diluição isotópica de ^{15}N com as mesmas espécies de *Brachiaria* (Boddey & Victoria 1986), feito no mesmo solo (Planossolo), em condições de campo, mostrou

TABELA 7. Recuperação de N - fertilizante por *Brachiaria* spp, crescidas em um Planossolo e um Latossolo durante 14 meses. Tratamento com molibdênio. Médias de cinco repetições (Mg de N. vaso ⁻¹).

Solo		<i>B. decumbens</i>	<i>B. humidicola</i>	<i>B. radicans</i>	<i>B. ruzizensis</i>
Planossolo	Parte aérea	69,4 (34,9) a ¹	74,0 (37,2) a	60,0 (30,2) b	70,9 (35,6) a
	Raízes	7,2 (3,6)	11,9 (6,0)	11,6 (5,8)	10,3 (5,2) ns
	Total	76,6 (38,5)	85,8 (43,1)	71,6 (36,0)	81,2 (40,8) ns
Latossolo	Parte aérea	74,4 (37,4)	74,1 (37,2)	69,7 (35,0)	70,8 (35,6) ns
	Raízes	9,2 (4,6) b	18,2 (9,1) a	12,4 (6,2) b	12,0 (6,0) b
	Total	83,6 (42,0)	92,2 (46,4)	82,0 (41,2)	82,8 (41,6) ns

¹ Os números entre parênteses representam a percentagem de recuperação do fertilizante marcado. As médias nas linhas horizontais seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente segundo o teste de Duncan ($P < 0,05$).

ns = não-significativo

TABELA 8. Recuperação total do N - fertilizante e balanço corrigido do N total nos vasos com Planossolo após cinco coletas. Tratamento com molibdênio. Médias de cinco repetições (mg de N. vaso ⁻¹).

Espécie	N-fertilizante no solo ¹	N-fertilizante recuperado pela planta	Recuperação total do N-fertilizante	Balanço corrigido de N total
<i>B. decumbens</i>	28,9 (14,5) ² ab	76,6 (38,5)	105,5 (53,0) ab	+ 218,5
<i>B. humidicola</i>	26,8 (13,5) b	85,8 (43,1)	112,7 (56,6) a	+ 268,3
<i>B. radicans</i>	27,0 (13,6) b	71,6 (35,9)	98,6 (49,5) b	+ 147,4
<i>B. ruzizensis</i>	34,2 (17,2) a	81,2 (40,8)	115,4 (58,0) a	+ 100,6
Sem planta	16,8 (8,5) c	—	16,8 (8,5) c	-135,8
		ns		
CV %	18,1	10,3	9,9	

¹ Resíduo de N-fertilizante no solo após as cinco coletas.

² Os números entre parênteses representam a percentagem de recuperação do fertilizante marcado.

³ Balanço corrigido de N total = balanço de N total (Tabela 3) + perdas de N-fertilizante.

As médias nas colunas seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, segundo o teste de Duncan ao nível de $P < 0,05$.

ns = não-significativo

contribuições bem significativas de FBN para nutrição das espécies *B. decumbens* e *B. humidicola*. O motivo pelo qual, neste balanço de N em vasos, resultados semelhantes não foram encontrados, foi devido, possivelmente, ao sistema de irrigação usado. Pois quando as raízes foram retiradas dos vasos observou-se que a maior parte delas estavam em volta do filtro de porcelana que fornecia a água, formando condições na rizosfera totalmente anormais e provavelmente não apropriadas para fixação biológica de N-2 nas raízes.

CONCLUSÕES

1. Não foi comprovada, estatisticamente, a ocorrência de fixação biológica de nitrogênio em nenhuma das espécies de *Brachiaria*, pois balanço significativamente positivo ou negativo não foi registrado. Porém, com a quantificação das perdas do N-fertilizante foi possível obter elevados valores positivos. Os valores então observados, sugeriram a ocorrência de fixação biológica de nitrogênio associada com as quatro espécies.

2. *B. humidicola* foi a espécie que apresentou maior desenvolvimento radicular e maior acúmulo de N, nos dois solos.

3. Perdas muito elevadas do fertilizante (91.55%), ocorreram em vasos não plantados.

4. *B. radicans* foi a espécie que apresentou menor potencial de recuperação do fertilizante.

REFERÊNCIAS

- APP, A. A.; WATANABE, I.; ALEXANDER, M.; VENTURA, W.; DAEZ, C.; SANTIAGO, T.; DE DATTA, S.K. Nonsymbiotic nitrogen fixation associated with the rice plant in flooded soils. *Soil Sci.*, 130:283-9, 1980.
- BALANDREAU, J. & VILLEMIN, G. Fixation biologique de l'azote moléculaire en Savane de Lamto (basse Côte D'Ivoire). *Rev. Ecol. Biol. Soil.*, 10:25-33, 1973.
- BODDEY, R. M.; CHALK, P.M.; VICTORIA, R.L.; MATSUI, E., DÖBEREINER, J. The use of the ^{15}N isotope dilution technique to estimate the contribution of associated biological nitrogen fixation to the nitrogen nutrition of *Paspalum notatum* c.v. Batatais. *Can. J. Microbiol.*, 29:1036-45, 1983.
- BODDEY, R. M. & VICTORIA, R.L. Estimation of biological nitrogen fixation associated with *Brachiaria* and *Paspalum* grasses using ^{15}N labelled organic matter and fertilizer. *Plant & Soil*, 90:265-92, 1986.
- BROADBENT, F. E. & TUSNEEM, M. E. Losses of nitrogen from some flooded soils in tracer experiments. *Soil. Sci. Soc. Am. Proc.*, 35:922-6, 1971.
- DART, P.J. & WANI, S.P. Nonsymbiotic nitrogen fixation and soil fertility. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF SOIL SCIENCE, 12, New Delhi, 1982. Nonsymbiotic nitrogen fixation and organic matter in the tropics. New Delhi, 1982. p. 3-27.
- DE-POLLI, H.; MATSUI, E.; DÖBEREINER, J.; SALATI, E. Confirmation of nitrogen fixation in two tropical grasses by $^{15}\text{N}_2$ incorporation. *Soil Biol. Biochem.*, 9: 119-23, 1977.
- DÖBEREINER, J.; DAY, J. M.; DART, P.J. Nitrogenase activity in the rhizosphere of sugar cane and some other tropical grasses. *Plant Soil*, 37:191-6, 1972.
- EVANS, H.J. & RUSSELL, S.A. Physiological chemistry of symbiotic nitrogen fixation by legumes. In: POSTGATE, J.R. ed., *Chemistry and Biochemistry of nitrogen fixation*. London, Plenum Press, 1971. p.191-224.
- GREENLAND, D.J. Contribution of microorganisms to the nitrogen status of tropical soils. In: AYANABA, A & DART, P. J. ed. *Biological nitrogen fixation in farming systems of the tropics*. New York, Wiley & Sons, 1977. p.13-25.
- JAIYEBO, E. O. & MOORE, A.W. Soil nitrogen accretion under different covers in a tropical rainforest environment. *Nature*, 19:317-8, 1963.
- LIAO, C.F.H. Devarda's alloy method for total nitrogen determinations. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 45:852-5, 1981.
- LOUREIRO, M.F. Balanço de nitrogênio em gramíneas do gênero *Brachiaria*. Rio de Janeiro, UFRJ, 1985. 102p. Tese Mestrado.
- MIRANDA, C.H.B.; SEIFFERT, N.F.; DÖBEREINER, J. Efeito de aplicação de molibdênio no número de *Azospirillum* e na produção de *Brachiaria decumbens*. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 20(5):509-13, maio 1985.
- NELSON, A.D.; BARBER, L.E.; TJEKEMA, J.; RUSSEL, S.A.; POWELSON, R.; EVANS, H.J.; SEIDLER, R.J. Nitrogen fixation associated with grasses in Oregon. *Can. J. Microbiol.*, 22:523-30, 1976.
- NEYRA, C.A. & DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation in grasses. *Adv. Agron.* 29:1-18, 1977.
- PEREIRA, P. A. A.; DÖBEREINER, J.; NEYRA, C. A. Nitrogen assimilation and dissimilation in five genotypes of *Brachiaria* spp. *Can. J. Bot.*, 59:1475-9, 1981.
- SAITO, S.M.T.; MONTANHEIRO, M.N. S.; VICTORIA, R. L.; REICHARDT, K. The effects of N fertilizer and soil moisture on the nodulation and growth of *Phaseolus vulgaris*. *J. Agric. Sci.*, 103: 87-94, 1984.
- SMITH, B. E. The structure and function of nitrogenase: a review of the evidence for the role of molybdenum. *J. Less-Common Met.*, 54:465-75, 1977.
- SMITH, R. M.; THOMPSON, D. O.; COLLIER, J.W., HERVEY, R.J. Soil organic matter, crop yields, and land use in the Texas Blackland. *Soil Sci.*, 77:377-88, 1954.
- VENTURA, W. & WATANABE, I. ^{15}N dilution technique of assessing nitrogen fixation in association with rice. *Philipp. J. Crop. Sci.*, 7:44-50, 1983.
- WEIER, K. L. Nitrogenase activity associated with three tropical grasses growing in undisturbed soil cores. *Soil Biol. Biochem.*, 12:131-6, 1980.
- WHITE, J. W.; HOLBEN, F.J.; RICHER, A.C. Maintenance level of nitrogen and organic matter in grassland and cultivated soil over periods of 54 and 72 years. *J. Am. Soc. Agron.*, 37:21-31, 1945.
- WILLIS, W.H. & GREEN, V. E. Movement of nitrogen in flooded soil planted to rice. *Soil Sci. Am. Proc.*, 13: 229-37, 1948.