

Monitoramento da população de microrganismos amonificadores e nitrificadores e de taxas de amonificação e nitrificação em solos sob cultivo de cana-de-açúcar na região de Ribeirão Preto, SP. Heitor L.C. Coutinho, Marcos Antônio V. Ligo, Alessandra F. Novelli, Viviane C. Bettanin e Edénir R. Pereira Filho. CNPMA - EMBRAPA, Rod. SP-340, Jaguariúna-SP. (heitor@bdt.org.br).

Palavras-chave: amonificação, nitrificação, cana-de-açúcar, monitoramento ambiental

Introdução

A agricultura intensiva se caracteriza pela mecanização dos processos de produção e pelo uso sistemático de agroquímicos com o objetivo de controlar pragas e doenças e maximizar a produtividade das culturas através da fertilização dos solos. Esta atividade provoca alterações a curto, médio e longo prazos, podendo resultar no comprometimento da qualidade ambiental, além de afetar a disponibilidade dos recursos naturais e a sustentabilidade da atividade agrícola. O conhecimento da estrutura e composição do meio biótico de agroecossistemas sob agricultura intensiva permite o estudo das alterações ambientais resultantes, além do desenvolvimento de práticas direcionadas à redução dos impactos e à sustentabilidade da produção agrícola. Foi observado que os solos sob cultivo intensivo da microbacia do Espirado, em Ribeirão Preto, tem atividade microbiana bastante reduzida quando comparados com solos sob vegetação de mata nativa e de reflorestamento com Eucalipto (relatório 11.0.94.221.02, SEP, 1995).

A fertilização excessiva de campos agrícolas com compostos nitrogenados (químico ou orgânico) causa um dos mais sérios problemas ambientais da atualidade, que é a contaminação das fontes de água por nitratos. Estes constituem uma ameaça à saúde humana, podendo causar até deformação em fetos se água contaminada for consumida por gestantes. Países desenvolvidos como os EUA e a Holanda dispõem altas somas de dinheiro no tratamento das águas contaminadas por nitratos oriundos de terras sob agricultura intensiva.

A necessidade de fertilização nitrogenada química das culturas agrícolas pode ser diminuída se explorarmos de maneira eficiente os processos microbianos responsáveis pelas transformações do nitrogênio nas formas assimiláveis pelas plantas. Os processos principais são amonificação, nitrificação e a fixação biológica de nitrogênio, que não será abordada neste trabalho. Os processos de amonificação e nitrificação constituem a mineralização do nitrogênio no solo. Em condições naturais, o amônio (NH_4^+) é liberado durante o processo de decomposição da matéria orgânica (amonificação). Uma ampla gama de espécies microbianas estão envolvidas neste processo, tanto fungos e leveduras como bactérias. Já a nitrificação ocorre em duas etapas. Primeiramente, o amônio formado na amonificação é oxidado a nitrito ($2\text{NH}_4^+ + 3\text{O}_2 \rightarrow 2\text{NO}_2^- + 4\text{H}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$). Cinco gêneros de bactérias já foram descritos como oxidantes do amônio: *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosobrio*. A segunda etapa consiste da oxidação do nitrito e a subsequente formação do nitrato ($2\text{NO}_2^- + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{NO}_3^-$). Apenas um gênero bacteriano é conhecido como protagonista desta transformação, o *Nitrobacter* (Andrade *et al.*, 1995). Em ecossistemas em estágio clímax, estes processos, juntamente com a fixação biológica de

nitrogênio e a desnitrificação, ocorrem simultaneamente resultando num fornecimento sustentável de nitrogênio para as plantas.

Excessos de nitrato podem ocorrer frequentemente na agricultura, tanto convencional quanto “orgânica”. A adição de fertilizantes em excesso, mesmo amoniacais, resulta em formação de nitrato por nitrificação. Da mesma forma, a adubação orgânica em excesso, na forma de esterco, por exemplo, liberará amônio que também será transformado em nitrato. Este, sendo altamente solúvel, será lixiviado e terminará contaminando os corpos de água, subterrâneos e/ou superficiais. A contaminação de águas subterrâneas devido ao uso excessivo de esterco nas terras agrícolas é um problema atual na Holanda. A sustentabilidade da agricultura e conseqüente redução dos impactos ambientais dela proveniente dependerá, entre muitos outros fatores, de alcançarmos o perfeito equilíbrio entre os processos de transformação do nitrogênio que ocorrem nos solos.

Este trabalho foi desenvolvido na microbacia do córrego do Espraiado, que corta os municípios de Ribeirão Preto e Serrana, no norte do estado de São Paulo. Esta microbacia foi selecionada para o estudo por conter uma área de recarga do aquífero de Botucatu. Este aquífero abrange grande parte do Estado de São Paulo e é responsável pelo abastecimento de água da região de Ribeirão Preto. Por ser área de recarga do aquífero, o uso abusivo de agroquímicos no solo tem maior potencial de acarretar em problemas de contaminação das águas subterrâneas. A microbacia do Espraiado é hoje ocupada por atividades agrícolas intensivas, principalmente a cultura da cana-de-açúcar, de grande importância econômica para o Estado de São Paulo e para o Brasil.

Objetivou-se neste trabalho monitorar as populações de microrganismos amonificadores e nitrificadores e as respectivas taxas de amonificação e nitrificação em solos sob cultivo de cana-de-açúcar amostrados de diferentes pontos selecionados ao longo da microbacia do Espraiado.

Metodologia

Os pontos de amostragem foram selecionados após um mapeamento de solos feito em toda a microbacia. A área foi dividida em três subáreas de acordo com o tipo de solo predominante (tabela 1).

Tabela 1. Divisão da área da microbacia do Espraiado de acordo com o tipo de solo.

Subárea	Tipo de Solo
A	Latosolo roxo e Terra estruturada (LR e TE)
B	Latosolo vermelho escuro e Areia quartzosa (LE e AQ)
C	Latosolo vermelho amarelo e Areia quartzosa (LV e AQ)

Foram selecionados 3 pontos de cada subárea, sendo estes representativos da respectiva sub-área e localizados em talhões de cana-de-açúcar. As coletas foram realizadas mensalmente, utilizando-se um trado para coletar os 20 cm superficiais de 10 sub-amostras

em torno de cada ponto amostral. As sub-amostras foram bem homogêneas e a amostra composta foi transportada para o laboratório do CNPMA sempre em gelo.

No máximo uma semana após cada coleta foram preparados ensaios para determinação do número-mais-provável de microrganismos amonificadores e nitrificadores. Foi utilizado o método de Andrade *et al.* (1995) com as seguintes modificações: foram utilizadas placas de micro-poços do tipo “Elisa” ao invés de tubos de ensaios; o teste para avaliação de oxidantes do nitrito foi realizado com a adição do reagente difenilamina para detecção direta do nitrato ao invés de adicionar sulfanilamida e hidrócloro de N-(1-naftil)-etilenodiamina para detecção de nitrito e determinação indireta da transformação em nitrato. A primeira modificação resultou numa maior facilidade de trabalho, ocupando menos espaço e facilitando o registro dos resultados. A segunda facilitou a determinação da oxidação do nitrito, já que foi detectado que alguns poços apresentavam resíduos de nitrito apesar de ter havido a transformação a nitrato, resultando em falsos negativos quando utilizamos o método proposto por Andrade *et al.* (1995). O meio de cultura utilizado para a determinação de amonificadores foi o de Sarathchandra (1978) e os para determinação de oxidantes de amônio e nitrito foram os preconizados por Saad e Ralf (1993).

Os teores de amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-) foram determinados semanalmente em amostras de solos incubados sem suplemento, com arginina, e com amônio. Os suplementos são para determinação das taxas de amonificação e nitrificação, respectivamente. Os solos foram preparados segundo Andrade *et al.* (1995) e os teores de NH_4^+ e NO_3^- , extraídos com KCl 2N, foram determinados segundo Bremner e Keeney (1966).

Resultados e Conclusão

Os resultados iniciais da estimativa de número-mais-provável (NMP) de microrganismos envolvidos na mineralização do nitrogênio estão na tabela 1. As primeiras análises (coleta de 26/02/96) foram feitas em placas multipoços flexíveis, o que resultou em má esterilização das mesmas sob ultravioleta e a presença de reações positivas dos controles nos testes de amonificação e oxidação do NO_2^- . Portanto estes resultados devem ser analisados com reservas para efeito de comparação. No entanto, as placas foram trocadas por outras de melhor qualidade no segundo teste (21/03/96) e não houve nenhum controle com reação positiva. É interessante notar que as amostras P.04 e P.35, respectivamente latosolo roxo e areia quartzosa, apresentaram os mais baixos valores de NMP de amonificadores na segunda coleta. A amostra P.04 também apresentou baixa taxa de nitrificação quando comparados com outros solos. Estamos investigando se houve alguma aplicação de algum herbicida ou inseticida de solo naquele ponto amostral antes da coleta. Outra possibilidade seria a menor eficiência na extração de células microbianas de solos com elevados teores de argila. A amostra P.35, em contrapartida, apresentou alta taxa de nitrificação, o que não correlacionou com seu baixo NMP de microrganismos amonificadores.

Tabela 1. Número-mais-provável (NMP) de microrganismos amonificadores, oxidantes de NH_4^+ , e oxidantes de NO_2^- , em amostras de solos da microbacia do Espiraiado. Datas se referem ao período de coleta dos solos analisados.

Amostra de solo	Amonificadores		Oxidantes de NH_4^+	Oxidantes de NO_2^-
	26/02/96	21/03/96	26/02/96	26/03/96
P.04	$5,7 \times 10^{10}$	$3,7 \times 10^8$	$4,3 \times 10^{12}$	$> 6,0 \times 10^{14}$
P.06	$1,4 \times 10^{10}$	$9,0 \times 10^{11}$	$1,5 \times 10^{13}$	$> 6,0 \times 10^{14}$
P.20	$5,7 \times 10^{10}$	$5,7 \times 10^{12}$	$5,7 \times 10^{12}$	$3,3 \times 10^{14}$
P.23	$5,7 \times 10^{11}$	$5,7 \times 10^{12}$	$1,5 \times 10^{13}$	$> 6,0 \times 10^{14}$
P.24	$7,3 \times 10^9$	$5,7 \times 10^{11}$	$> 6,0 \times 10^{14}$	$3,3 \times 10^{14}$
P.26	$7,3 \times 10^{12}$	$5,7 \times 10^{11}$	$> 6,0 \times 10^{14}$	$> 6,0 \times 10^{14}$
P.27	$3,7 \times 10^{12}$	$5,7 \times 10^{11}$	$> 6,0 \times 10^{14}$	$> 6,0 \times 10^{14}$
P.33	$> 6,0 \times 10^{14}$	$5,7 \times 10^{11}$	$> 6,0 \times 10^{14}$	$> 6,0 \times 10^{14}$
P.35	$> 6,0 \times 10^{14}$	$3,2 \times 10^9$	$> 6,0 \times 10^{14}$	$> 6,0 \times 10^{14}$

Os resultados permitiram uma avaliação das transformações do nitrogênio nas diferentes amostras de solos. Estas serão monitoradas ao longo do ano possibilitando a verificação da influência do tipo de solo e de tratamentos culturais como aplicação de herbicidas e utilização de queimadas pré-colheita. Este experimento será continuado, no mínimo, por mais dois anos e os dados armazenados poderão ser utilizados em modelos matemáticos. Estes dados serão também comparados com informações climatológicas, determinação de nitratos nas águas superficiais e subterrâneas, e em diferentes profundidades do solo, que estão sendo levantados por outros grupos de pesquisa do CNPMA.

Referências Bibliográficas

- Andrade, D.S. *et al.* (1995). In: *Manual de Métodos de Microbiologia Agrícola* (M. Hungria e R. Araújo, eds.). SPI-EMBRAPA. p. 355-367.
- Bremner, J.M. e Keeney, D.R. (1966). *Soil Science Society of America Proceedings* 30:577-582.
- Saad, O.A.L. e Ralf, C. (1993). *Biology and Fertility of Soils* 15:21-27.
- Saratchandra, S.V. (1978). *Plant and Soil* 50:90-111.