

## AS VARIAÇÕES NOS TEORES DA ABUNDÂNCIA NATURAL DE $^{15}\text{N}$ SÃO BOA INDICAÇÃO DE FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE $\text{N}_2$ EM *BRACHIARIA* SPP?

### AUTORES

CESAR H. B. MIRANDA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pesquisador, Embrapa Gado de Corte. CP 154, 79002-970, Campo Grande, MS

### RESUMO

Determinaram-se os conteúdos em N total e teores da abundância total do isótopo  $^{15}\text{N}$  ( $\delta^{15}\text{N}$ ) de 13 genótipos dentre *Brachiaria decumbens*, *B. humidicola* e *B. brizantha*, crescendo no campo em um NEOSSOLO QUARTZARÊNICO, em amostragens nas épocas chuvosas de 1996, 97 e 98, e seca de 98. Verificou-se correlação significativa ( $P < 0,01$ ) entre os acúmulos de matéria seca e N total das plantas em todas as colheitas, denotando estreita dependência do crescimento das plantas à disponibilidade de N no solo. Não houve correlação entre a produção total de N e os teores de  $\delta^{15}\text{N}$  das plantas, a não ser na primeira colheita, muito embora os genótipos apresentassem teores variados e contrastantes entre si em todas as colheitas. Verificou-se uma aparente correlação positiva na colheita do período seco do terceiro ano, quando seria razoável supor que as plantas manifestassem dependência de N de fixação biológica, com correlação negativa. Isto sugere que a fixação biológica de  $\text{N}_2$  não foi a única causa da variação nos teores de  $\delta^{15}\text{N}$  desses genótipos. Outras possíveis causas são discutidas. Os resultados obtidos não fornecem evidências suficientes para concluir que estes genótipos obtiveram N através de fixação biológica de  $\text{N}_2$ . Conclui-se que variações nos teores de  $\delta^{15}\text{N}$  não são um indicador seguro das fontes de N usadas por estes genótipos de *Brachiaria*, nas condições estudadas, e, assim, desaconselha-se seu uso para determinação de obtenção de N via fixação biológica nestas gramíneas.

### PALAVRAS-CHAVE

Forageiras; Isótopos; Nitrogênio

### TITLE

ARE VARIATIONS IN  $^{15}\text{N}$  NATURAL ABUNDANCE A GOOD INDICATOR OF  $\text{N}_2$  BIOLOGICAL FIXATION IN *BRACHIARIA* SPP?

### ABSTRACT

Total N content and natural abundance of the isotope  $^{15}\text{N}$  ( $\delta^{15}\text{N}$ ) were determined in 13 genotypes of *Brachiaria decumbens*, *B. humidicola* e *B. brizantha* growing in field parcels on a Quartz-Psament soil. It was evaluated plant material from a harvest in the rainy periods of 1996, 97 and 98, and from a harvest at the dry period of 98. There was a significant correlation ( $P < 0.01$ ) between the dry matter accumulation and the plant total N at all harvests, which is related to the close relationship between plant growth and soil N availability. On the other hand, there was no correlation between plant total N and  $\delta^{15}\text{N}$  contents but at the first harvest, although the genotypes showed varied and contrasting  $\delta^{15}\text{N}$  contents in all harvests. There was, apparently, a positive correlation at the harvest of the third year dry period, when would be expected plants would become dependent of N from fixation, and thus, shows a negative correlation. Such lack of correlation suggests that  $\text{N}_2$  biological fixation was not the only cause for variation in  $\delta^{15}\text{N}$  among these genotypes. Other possible causes are discussed. The results do not provide enough evidence to conclude that any of these genotypes were obtaining N throughout biological fixation. It is evident that variations in  $\delta^{15}\text{N}$  are not a good indicator of the N sources used by these genotypes of *Brachiaria* in the conditions studied, and, thus, not being suitable their use as indicative of N obtaining through biological nitrogen fixation.

### KEYWORDS

Forrage, Isotopes; Nitrogen

## INTRODUÇÃO

Um dos pontos chaves do sucesso de *Brachiaria* spp. é seu potencial de crescimento em solos com baixa disponibilidade de Nitrogênio (N). Por isso, já foi sugerido (BODDEY e VICTORIA, 1986) que estas espécies podem obter N através de fixação biológica do N<sub>2</sub> atmosférico, por associação com bactérias fixadoras de N, baseados em estudos com a técnica da diluição do isótopo <sup>15</sup>N. Uma possibilidade de se medir a ocorrência de fixação biológica em plantas crescendo no campo é usar-se a técnica da abundância natural do <sup>15</sup>N ( $\delta^{15}\text{N}$ ). Os teores de  $\delta^{15}\text{N}$  são usados como indicadores da disponibilidade de N do solo e, normalmente, são estáveis para um determinado solo como um todo, como resultado da discriminação entre os isótopos leves (<sup>14</sup>N) e pesados (<sup>15</sup>N) desse elemento, que ocorre em processos do ciclo do N no solo tais como a mineralização, nitrificação e denitrificação. Havendo entrada de N da atmosfera, com  $\delta^{15}\text{N}$  igual a zero, via fixação biológica, haverá uma diluição proporcional do  $\delta^{15}\text{N}$  do N do solo que a planta fixadora, teoricamente, poderia absorver e assimilar, em comparação a uma planta não-fixadora, que apresentaria o  $\delta^{15}\text{N}$  do N do solo. Neste trabalho são descritas as variações do  $\delta^{15}\text{N}$  de 13 genótipos de *B. decumbens*, *B. brizantha* e *B. humidicola*, feitos em colheitas ocasionais durante um período de três anos, e discutida a possibilidade do seu uso para estimativa da ocorrência de fixação biológica de N<sub>2</sub> nestes genótipos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi estabelecido no campo em Dezembro de 1995, em um Neossolo Quartzarênico, com 95% de areia e 4% de argila. O pH em água era 4,7, o teor de matéria orgânica 0,57%, e Ca+Mg, K e P 1,0, 0,09 e 0,01 cmol<sup>+</sup>L<sup>-1</sup>, respectivamente. O solo foi cultivado com soja pelos três anos anteriores ao estabelecimento do experimento, tendo sido corrigido em 1993, com 3 ton de CaCO<sub>3</sub>/ha. Fez-se fertilização nos anos de cultivo da soja com 60 kg/ha de P e K, respectivamente. Nitrogênio (12 kg/ha) foi aplicado somente no estabelecimento do novo experimento, mas P e K foram adicionados anualmente (60 kg/ha, respectivamente). Vinte e quatro genótipos de *Brachiaria* spp. foram semeadas em parcelas de 2,0m x 2,5m, num desenho de blocos ao acaso, com quatro repetições por tratamento. Escolheu-se 13 genótipos dentre estes, assim distribuídos: *B. decumbens* – a variedade comercial e o genótipo D9; *B. humidicola* – variedade comercial, H13 e H16; *B. brizantha* – variedade comercial, B72, B104, B112, B140, B144, B158 e B 178. Colheitas seqüenciais foram feitas de acordo com o crescimento das plantas, começando em 12 de março de 1996, até 6 de outubro de 1998. Considerando a estacionalidade da distribuição de chuvas nos Cerrados, até cinco colheitas foram feitas na estação chuvosa (início de outubro até abril), e no máximo três colheitas na estação seca (abril até setembro). No total foram feitas 18 colheitas, num período de 1.037 dias de crescimento. Amostras de todos os genótipos escolhidos foram tomados de quatro colheitas representativas do período, em 06/06/1996 (colheita final da estação chuvosa de 96), 14/02/1997 (terceira colheita da estação chuvosa de 97), 03/03/1998 (terceira colheita da estação chuvosa de 98), e 06/10/1998 (colheita final da estação seca de 98). A planta inteira acima de 20 cm do solo foi colhida em cada repetição e pesada logo após o corte. Uma subamostra foi tomada e separada para análises posteriores. O restante do material colhido foi descartado fora das parcelas, de forma que não havia retorno do material colhido. O material foi separado em laboratório quanto a sua composição em folhas verdes, talos e material morto, os quais foram secos a 65°C por 72h, pesados e moídos finamente, para análise direta dos seus teores de N e  $\delta^{15}\text{N}$ . Estes foram determinados usando-se um Espectrômetro de Massa (Europe 20-20). O  $\delta^{15}\text{N}$  da planta inteira foi calculado pela média ponderada dos teores em  $\delta^{15}\text{N}$  de cada fração e seus respectivos conteúdos em N total.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se correlação significativa ( $P < 0,01$ ) entre os acúmulos de matéria seca e N total das plantas em todas as colheitas (dados não apresentados). Isso indica estreita dependência, como é bem conhecido, do crescimento da planta à disponibilidade de N no solo. Por outro lado, não houve correlação entre a produção total de N e os teores de  $\delta^{15}\text{N}$  das plantas, a não ser na

primeira colheita (Figura 1). Sendo esta colheita próxima ao estabelecimento das plantas, uma contribuição de fixação biológica de  $N_2$  não seria esperada neste período, devido a mineralização estimulada pelo preparo do solo e da adubação inicial. Seria razoável supor que a dependência de N de fixação biológica se manifestasse em períodos posteriores de crescimento, quando o N do solo deveria se tornar limitado; entretanto, isso não foi observado. Inclusive, na colheita do período seco (Figura 1D), verificou-se uma correlação positiva, indicando que os genótipos com maiores conteúdos de N total tiveram maior acesso ao do N do solo. Esta falta de correlação sugere que possível diluição do  $\delta^{15}N$  das plantas por fixação biológica de  $N_2$  não foi a única causa que possa explicar a variação no  $\delta^{15}N$  dos genótipos testados. Para explicar essas variações, pode-se argumentar que os genótipos testados poderiam estar explorando o solo a diferentes profundidades, devido a diferenças em expansão de raízes; ou explorando pontos específicos do solo com concentração diferenciada de matéria orgânica (e, possivelmente, com diferentes teores de  $\delta^{15}N$ ), através uma proliferação localizada de raízes; ou, ainda, por diferentes taxas de colonização micorrízica, que lhes aumentaria a eficiência de absorção de N do solo. Outra possibilidade é a de que os genótipos testados venham a discriminar diferentemente o  $^{14}N$  e o  $^{15}N$  durante a absorção e assimilação de nitrato e/ou amônio. Discriminações ao  $^{15}N$  são descritas na literatura (YONEYAMA et al., 2001) e já medidas em *Brachiaria* spp. (MIRANDA, C.H.B., dados não publicados). Durante a estação chuvosa as condições ambientais (temperatura e umidade) são favoráveis a ciclos rápidos de mineralização e imobilização do N orgânico do solo, o que pode resultar em diferentes disponibilidades de N mineral no solo, dependendo da distribuição espacial da matéria orgânica. Neste período as plantas estão em crescimento ativo, explorando o solo eficientemente. Com ciclos mais rápidos de mineralização e imobilização do N mineral no solo e diferenças em eficiência de absorção de N dentre os genótipos, como demonstrado por Miranda et al. (1994), alguns deles podem apresentar esses efeitos discriminatórios numa magnitude diferente de outros, resultando num menor  $\delta^{15}N$ . Isto poderia explicar porque durante a estação chuvosa as correlações entre as produções de N total e os teores de  $\delta^{15}N$  foram fracas e casuais. Na estação seca, com a queda da temperatura e redução da umidade do solo, a taxa de mineralização da matéria orgânica é menor, resultando numa disponibilidade de N mineral uniforme ao longo do perfil do solo. A demanda da planta por N também é menor neste período. Como consequência, o efeito discriminatório contra o  $^{15}N$  seria negligível ou uniforme entre os genótipos, o que explicaria porque se obteve uma melhor correlação entre o N total e o  $\delta^{15}N$  das plantas neste período de crescimento. De forma geral, os resultados obtidos não fornecem evidências suficientes para concluir de que os genótipos estudados obtiveram N através de fixação biológica de  $N_2$ . Por outro lado, também não se pode concluir definitivamente que a fixação de  $N_2$  não tenha ocorrido. Foi comparada uma população pequena de genótipos, sem um controle que possamos dizer que efetivamente usa somente o N do solo. Não existindo tal controle, é impossível chegar-se a uma conclusão definitiva, um problema que é encontrado mesmo em sistemas com plantas evidentemente fixadoras como leguminosas (CHALK e LADHA, 1999). O mais evidente, a partir dos resultados obtidos, é que  $\delta^{15}N$  não é um indicador seguro das fontes de N usadas por estes genótipos de *Brachiaria* crescendo em condições naturais no campo, como já observado em outros estudos em ecossistemas naturais (HANDLWY e SCRIMGEOUR, 1997). Dessa forma, recomenda-se cautela e estudos mais aprofundados quanto ao uso efetivo das variações nos teores de  $\delta^{15}N$  para determinação de obtenção de N via fixação biológica por gramíneas forrageiras tais como *Brachiaria* spp.

## CONCLUSÕES

Os teores da abundância natural do  $^{15}N$  não parecem ser um indicador seguro das fontes de N usadas (N do solo ou de fixação biológica) por estes genótipos de *Brachiaria*, nas condições estudadas.

Não se encontraram evidências suficientes para concluir-se que algum dos genótipos estudados obteve N de fixação biológica de  $N_2$ .

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS)**

1. **BODDEY R M., VICTORIA R L.** Estimation of biological nitrogen fixation associated with *Brachiaria* and *Paspalum* grasses using <sup>15</sup>N-labeled organic matter and fertilizer. **Plant and Soil** 90, 1996. p.265-292.
2. **CHALK, PM., LADHA, J.K.** Estimation of legume symbiotic dependence: an evaluation of techniques based on <sup>15</sup>N dilution. **Soil Biology and Biochemistry**, 1999, 31, 1901-1917.
3. **HANDLEY, L.L., SCRIMGEOUR, C.M.** Terrestrial plant ecology and <sup>15</sup>N natural abundance: The present limits to interpretation for uncultivated systems with original data from a Scottish old field. **Advances in Ecological Research**, 1997, 27, 13-212.
4. **MIRANDA, C.H.B., CADISCH, G., URQUIAGA, S, BODDEY, R.M., GILLER, K.E.** Mineral nitrogen in an oxisol from the Brazilian cerrados in the presence of *Brachiaria* spp. **European Journal of Agronomy**, 1994, 3, 333-337.
5. **YONEYAMA, T., MATSUMARU, T., USUI, K., ENGELAAR, W.** Discrimination of nitrogen isotopes during absorption of ammonium and nitrate at different nitrogen concentrations by rice (*Oryza sativa* L.) plants. **Plant Cell and Environment**, 2001, 24, 133-139.

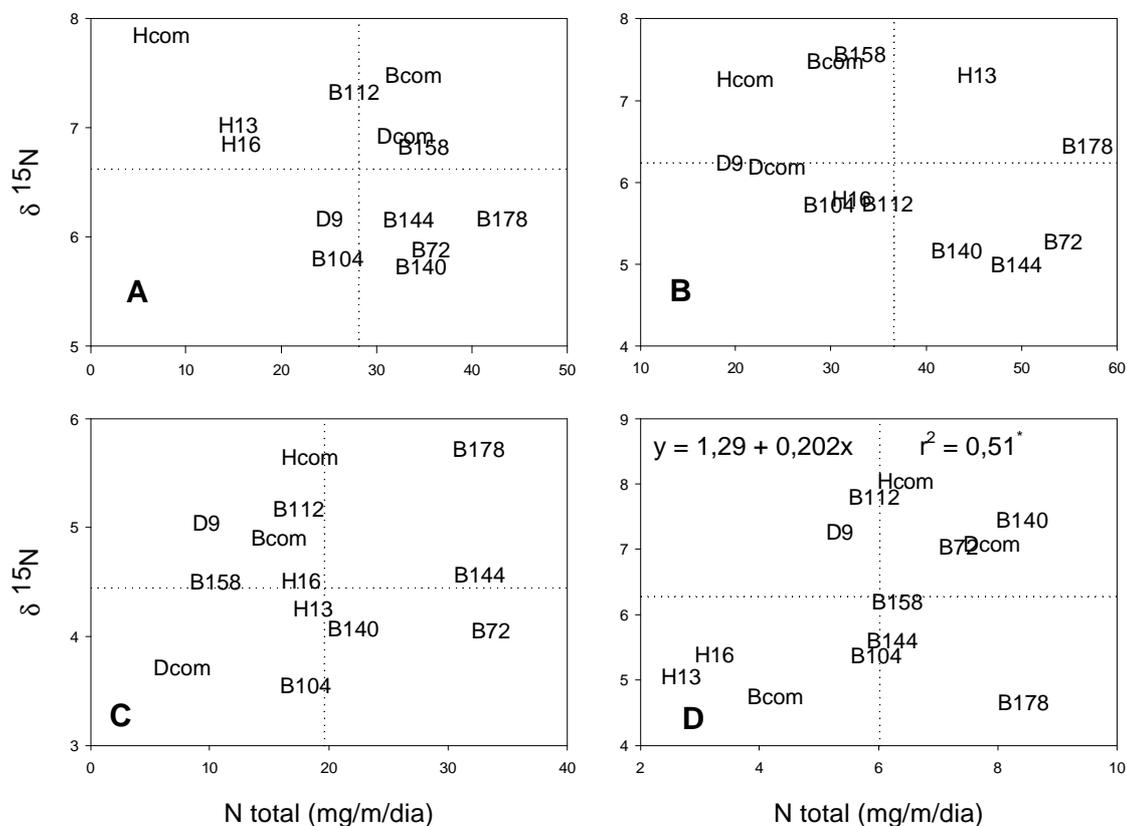


Figura 1. Correlações entre as produções totais de N e os teores de  $\delta^{15}N$  dos genótipos de *Brachiaria decumbens* (numerais com prefixo D), *B. humidicola* (com prefixo H) e *B. brizantha* (com prefixo B), nas colheitas durante a estação chuvosa de 1996 (A), 1997 (B), 1998 (C), e a estação seca de 1998 (D). As linhas pontilhadas representam a média da população em cada um dos parâmetros avaliados.