



XXXIII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo

Solos nos biomas brasileiros: sustentabilidade e mudanças climáticas
31 de julho à 05 de agosto - Center Convention - Uberlândia/Minas Gerais

CARBONO E NITROGÊNIO DA BIOMASSA MICROBIANA, ATIVIDADE DE UREASE E EMISSÃO DE N₂O COM APLICAÇÃO DE ESTERCO E URINA DE OVINOS

Emanuelle Cavazini Magiero⁽¹⁾; Joice Mari Assmann⁽²⁾; Tatiane Bagatini⁽²⁾; Michely Tomazi⁽³⁾; Cimélio Bayer⁽⁴⁾; Fernando Viero⁽²⁾; Paulo Cesar de Faccio Carvalho⁽⁵⁾

⁽¹⁾ Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo (PPG_CS) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); Laboratório de Biogeoquímica Ambiental; Av. Bento Gonçalves, 7712, Faculdade de Agronomia, 91540-000 Porto Alegre-RS; emanuelle_c_magiero@hotmail.com; ⁽²⁾ Doutoranda(o) do PPG-CS da UFRGS; ⁽³⁾ Pesquisadora da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados-MT; ⁽⁴⁾ Professor adjunto do Departamento de Solos da UFRGS; ⁽⁵⁾ Professor adjunto do Departamento de Zootecnia da UFRGS.

Resumo – Poucas informações são encontradas na literatura sobre a influência das excretas animais depositadas em áreas sob pastejo no N e C microbiano e na atividade de urease no solo. Além disso, quando do aporte de excretas, principalmente em áreas sob pastejo, pode haver modificação nos processos microbianos relacionados a transformação do N no solo, o que pode afetar as emissões de N₂O nesse ambiente. O objetivo do trabalho foi determinar o efeito do esterco e da urina de ovinos no carbono (Cmic) e nitrogênio (Nmic) da biomassa microbiana, atividade de urease e emissão de N₂O num solo com pastagem de azevém (*Lolium multiflorum*), em sistema de criação de ovinos no Sul do Brasil. Em um Argissolo (12% argila) aplicou-se 13 kg N ha⁻¹ via esterco e 161; 242; 323; 403 kg N ha⁻¹ via urina e um controle, sem aplicação de esterco ou urina. Nos 39 dias que sucederam a aplicação das excretas, a aplicação de urina de ovinos favoreceu os incrementos no Cmic e Nmic, entretanto não afetou a atividade da urease. As emissões de N₂O foram incrementadas linearmente com o aumento da dose de urina utilizada e em média 0,28% do N aplicado foi emitido na forma de N-N₂O. A adição de esterco não teve efeito sobre os fatores avaliados neste estudo, comparado ao controle.

Palavras-Chave: pastagem, sazonalidade de amostragem, excreta de ovinos.

INTRODUÇÃO

Áreas sob pastejo são identificadas como locais de alta concentração localizada de N e C (Haynes e Willians, 1993), devido aos dejetos que são constantemente aportados na área com grande variabilidade espacial e temporal (Williams et al., 1999).

Sabe-se que o aporte de N e C ao solo altera as propriedades químicas, as enzimas, a abundância e a diversidade microbiana (Chu et al. 2007) e consequentemente a atividade microbiana que envolve as transformações do N e do C no solo. Neste sentido, a comunidade microbiana é de suma importância, apesar de apresentar baixa porcentagem de carbono orgânico (2 a 5%) e do nitrogênio total (1 a 5%) do solo, pois corresponde a parte viva e ativa da matéria

orgânica do solo, sendo uma indicadora sensível as mudanças ocorridas no solo (Smith e Paul, 1990). Quando da adição de N ao solo, há um aumento do carbono (Raiesi, 2004; Graham et al. 2002) e nitrogênio (Zaman et al., 2002) na biomassa microbiana.

Vários trabalhos têm apontado o N proveniente das excretas animais como o principal responsável pelas emissões de N₂O do solo (de Klein et al., 2003; Luo et al., 2008). A urina e o esterco depositados sobre o solo durante o pastejo provêm uma alta concentração localizada de N e C prontamente disponível que estimula a atividade dos microorganismos envolvidos nos processos de transformação do N no solo (Carter, 2007).

Além dos fatores supra citados, a atividade de urease, que é a enzima que converte a uréia em amônia é de fundamental importância quando da aplicação de urina animal, pois 70% do N presente na mesma encontra-se na forma de uréia (Haynes & Willians, 1993), a qual é rapidamente hidrolisada.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi determinar o efeito da aplicação de esterco e urina de ovinos no C e N da biomassa microbiana, na atividade de urease e nas emissões de N₂O.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido de setembro a outubro de 2009 na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA/UFRGS), município de Eldorado do Sul (RS), localizado na Depressão Central (RS). O solo da área é classificado como Argissolo Vermelho distrófico típico e o clima da região é do tipo Cfa, segundo a classificação de Köppen. A precipitação pluviométrica média anual da região é em torno de 1400 mm, com média mensal de 120 mm.

Antes da instalação do experimento o solo apresentava as características químicas: 22,00 g dm⁻³ de matéria orgânica; 87 mg dm⁻³ de K; 74 mg dm⁻³ de P; 2,50 cmol_c dm⁻³ de Ca; 1,30 cmol_c dm⁻³ de Mg; 0,40 cmol_c dm⁻³ de Al⁺³.

O delineamento experimental foi o de blocos inteiramente casualizados, com três repetições, sendo que cada unidade experimental media 1m² (1 x 1m). Os tratamentos consistiram de: Controle (0 kg N ha⁻¹); Esterco (12,90 kg N ha⁻¹) UR1 - 50 mL (161,29 kg N ha⁻¹); UR2 -

75 mL (241,94 kg N ha⁻¹); UR3 - 100 mL (322,60 kg N ha⁻¹); UR4 - 50 mL (403,23 kg N ha⁻¹).

Os teores de N total da urina e do esterco foram analisados quimicamente, segundo Tedesco et al. (1995), obtendo-se teores de N total de 10 g L⁻¹ e 9 g kg⁻¹ de MS, respectivamente. Quanto ao teor de C, o mesmo foi obtido por combustão seca, apresentando teor de 6,8 g L⁻¹ e 414,8 g kg⁻¹ de MS para urina e o esterco, respectivamente.

A área escolhida para sediar a referida área experimental se encontrava com pastagem anual de azevém, a qual foi cortada com auxílio de roçadora a uma altura de aproximadamente 0,10 m. A urina e o esterco foram aplicadas no centro da área delimitada pela base metálica (0,03 m²) da câmara. Em área adjacente a base metálica, foi aplicada a mesma quantidade de urina e esterco para avaliação dos atributos microbiológicos.

Aos dois, 16 e 39 dias após a aplicação dos tratamentos (DAA), coletou-se amostras de solo na profundidade de 0,00-0,10 m para avaliação do carbono e nitrogênio da biomassa microbiana e a atividade de urease. A atividade de urease foi estimada de acordo com Tabatabai & Bremner (1972).

Na extração do N e do C da biomassa microbiana, empregou-se o método de fumigação-extração, descrito em Vance et al. (1987). O teor de N do extrato da biomassa microbiana do solo foi quantificado, empregando-se o método descrito por Brookes et al. (1985).

A determinação do C do extrato foi realizada pela metodologia descrita em Brookes et al. (1985) e a quantificação do C nos extratos (fumigado e não fumigado) foi efetuada por meio da oxidação do C pelo permanganato de potássio, utilizando-se a colorimetria (Bartlett & Ross, 1988).

A quantificação das emissões de N₂O foi realizada através do método da câmara fechada, aos um, quatro, nove, 16, 23, 30 e 39 DAA. As câmaras utilizadas foram confeccionadas em material de cloreto de polivinil (PVC) com dimensões de 0,2 m de altura e 0,25 m de diâmetro e equipadas com válvula manual para acoplar as seringas de polipropileno usadas na amostragem do ar. O conteúdo das seringas foram analisados em um cromatógrafo Shimadzu 2014 Modelo "Greenhouse". O fluxo de N₂O foi calculado a partir da variação da concentração do mesmo nos tempos 0, 15, 30 e 45 minutos dentro da câmara. A variação da concentração de N₂O na câmara fechada durante a incubação foi obtido pelo coeficiente angular da equação da reta ajustada. As emissões de N₂O foram obtidos pelo valor médio das duas câmaras presentes em cada parcela, os quais foram calculados por integração dos dados de emissão diários obtidos, utilizando o software Origin 8.0.

Os resultados do experimento foram submetidos à análise de variância e quando diferenças significativas entre as médias dos tratamentos foram detectadas, utilizou-se comparação de médias através do teste de Tukey (p<0,05). O programa estatístico utilizado foi o STATGRAPHICS® e dispostos em gráficos com programa SigmaPlot 10.0®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O carbono (C-BM) e o nitrogênio (N-BM) na biomassa microbiana foram influenciados tanto pelos tratamentos quanto pela época de avaliação (Figura 1). Na primeira e na segunda avaliação (segundo e 16º DAA) o C-BM foi influenciado pela aplicação de urina (Figura 1A). Entretanto, somente o tratamento UR4 contribuiu significativamente para um maior C-BM com valores máximos em média de 461,33 µg g⁻¹ de solo seco na primeira coleta e na segunda coleta os tratamentos que apresentaram valores maiores de C-BM foram UR2, UR3 e UR4 com valores médio de 448,47; 484,57 e 548,17 µg g⁻¹ de solo seco, respectivamente. Esse incremento na biomassa microbiana pode ser considerado um efeito sinérgico da adição de substrato de carbono e outros nutrientes, além da aplicação de microorganismos presentes na urina ao solo.

Na terceira avaliação, aos 39 DAA não se observou efeito da urina no C-BM, visto que ocorreu uma redução de aproximadamente 19, 37, 34 e 49% para a UR1, UR2, UR3 e UR4, respectivamente da segunda para terceira avaliação, enquanto que o controle apresentou redução de apenas 15% neste período. No solo com esterco, o C-BM manteve-se praticamente estável durante o período avaliado, no entanto, comparado ao solo com urina, apresentou valores abaixo desta nas duas primeiras avaliações e na última, passou a apresentar os maiores valores, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, o que pode estar relacionado à baixa e contínua mineralização do esterco comparado à urina (Allen et al., 1996).

Observou-se um aumento significativo no N-BM (Figura 1B) na primeira avaliação quando comparada as demais, possivelmente devido ao fato que o N mineral presente no solo estava em níveis baixos inicialmente 23,10 mg kg⁻¹ de solo seco, demonstrando que a escassez de nutrientes no solo limita o crescimento microbiano e que a adição de N ao sistema promove aumento do N-BM (Silvan et al., 2003) e consequentemente a reciclagem do N (Cochran et al., 1988). Nota-se que na segunda e na terceira avaliação, o N-BM diminuiu, demonstrando o rápido retorno do N no solo pelos microorganismos ao solo (Puri & Ashman, 1998; Jenkinson et al., 2004), além de que com o passar do tempo, há competição entre plantas e microorganismos pelo N, podendo também explicar que as maiores emissões de N-N₂O ocorreram após a reciclagem do N-BM, aliado a maior disponibilidade N-NO₃ no solo e valores de PPA em média de 65%. Os dados obtidos demonstram a importância da sazonalidade de amostragem na avaliação do N-BM.

A aplicação de urina de ovinos aumentou significativamente a emissão de N₂O do solo, em comparação com a aplicação de esterco e o tratamento controle (sem aplicação de excretas). Os fluxos de N₂O variaram de 4 a 353 µg N-N₂O m⁻² h⁻¹ (Figura 2), sendo as maiores emissões correspondentes às maiores doses de urina aplicada. O efeito da urina no aumento das emissões de N₂O foi observado até os 23 DAA, sendo o pico de emissão aos 16 DAA (Figura 2), com fluxos crescentes de acordo com a dose aplicada (UR1=120; UR2=167; UR3=239 e UR4=353 µg N-N₂O m⁻² h⁻¹). Por outro lado,

trabalhos com aplicação de urina desenvolvidos em locais com inverno chuvoso, como ocorre no Rio Grande do Sul, verificaram picos de emissão aos 14 DAA (Willian et al., 1999), na Inglaterra, e 18 DAA (Luo et al., 2008) na Nova Zelândia. Este efeito prolongado da urina nas emissões de N_2O foi associado pelos autores a valores de PPA superiores a 65%.

A quantidade de N aplicado apresentou uma relação direta com a emissão de $N-N_2O$, sendo os fatores de emissão de 0,01% para o esterco e 0,28% para urina.

Após 30 dias da aplicação das excretas não se observou mais efeito na emissão de N_2O . Neste período os valores de PPA estavam abaixo dos níveis favoráveis para desnitrificação (<50%), no entanto, esta não pode ser atribuída como único fator limitante à produção de N_2O , visto que os teores de NO_3^- e NH_4^+ atingiram valores semelhantes ao do solo controle, indicando que efeito da urina na produção de N_2O não se prolongou mais que 30 dias.

Quanto a atividade de urease, foi verificado efeito somente da época de avaliação (Figura 3). A maior atividade de urease foi verificada na primeira amostragem, com média de $25,77 \text{ mg kg}^{-1} 2\text{h}^{-1}$ de NH_4^+ , a qual diferiu estatisticamente da segunda e da terceira avaliação, que apresentaram em média $16,00$ e $15,32 \text{ mg}^{-1} \text{ kg}^{-1} 2\text{h}^{-1} NH_4^+$, respectivamente. A não diferença entre os tratamentos pode ser explicada pelo fato que a adição da urina e esterco não aumentaram significativamente os níveis de urease no solo. Segundo Tisdall & Oades (1979), o corte da parte aérea das plantas de azevém promove um aumento na exsudação de compostos orgânicos pelas raízes além de aumento da rizosfera, constatando que o efeito da rizosfera aumentou a atividade da urease (Nahas et al., 1997) inicialmente, o qual diminuiu durante os períodos avaliados (Vargas et al., 2005). Shen et al. (2010), enfatizam que a sazonalidade na atividade de urease na mesma dose de N é variável, sugerindo que esta atividade pode estar relacionada com as condições físico-químicas do solo.

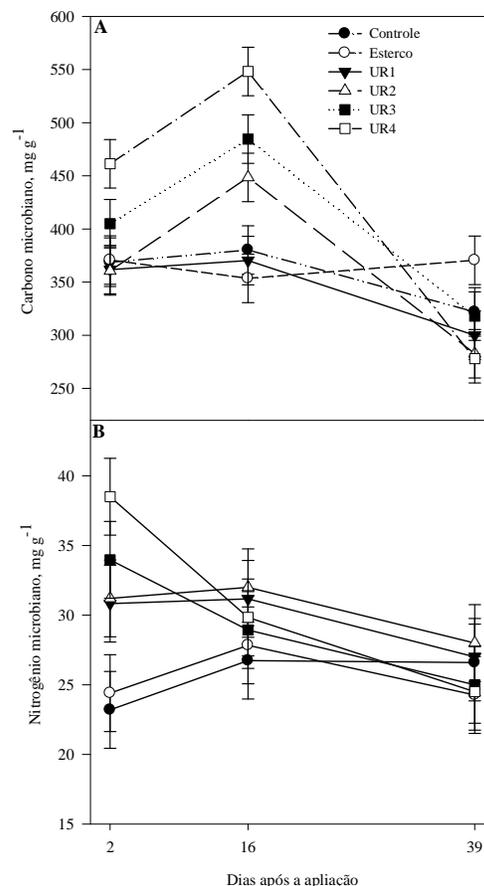


Figura 1. Carbono (A) e nitrogênio (B) da biomassa microbiana do solo, submetido a aplicação de esterco e doses de urina – UR1 (50 mL), UR2 (75 mL), UR3 (100 mL), UR4 (125 mL). Barras verticais em cada ponto representam o erro-padrão e se coincidentes não apresentam diferença estatística significativa.

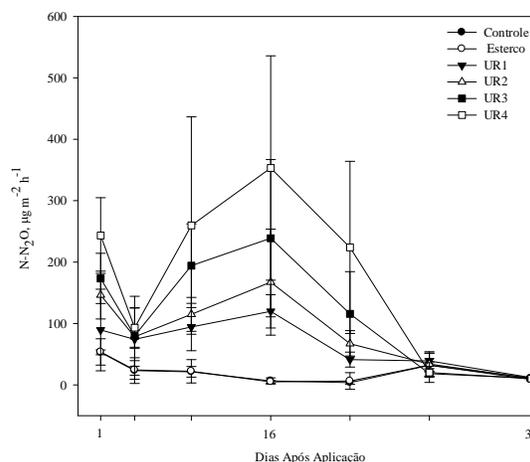


Figura 2. Emissão de $N-N_2O$ ($\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$) afetada pela aplicação de esterco e doses de urina – UR1 (50 mL), UR2 (75 mL), UR3 (100 mL), UR4 (125 mL). Barras verticais em cada ponto representam o erro-padrão e se coincidentes não apresentam diferença estatística significativa.

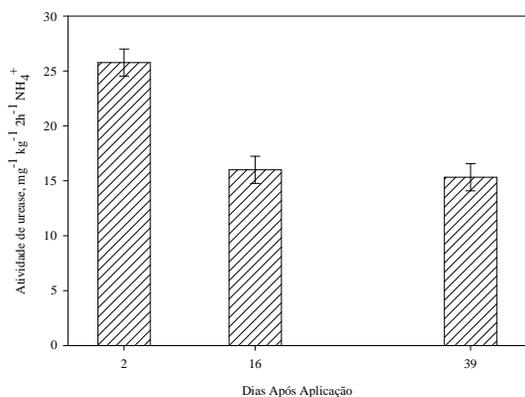


Figura 3. Atividade de urease do solo (média dos tratamentos), em função das épocas de avaliação. Barras verticais em cada ponto representam o erro-padrão e se coincidentes não apresentam diferença estatística significativa.

CONCLUSÕES

1. A aplicação de urina de ovinos favoreceu incrementos no C e N da biomassa microbiana, já a atividade da enzima urease não foi influenciada.

2. A aplicação de urina de ovinos incrementou as emissões de N₂O do solo e em média 0,28% do N aplicado foi emitido na forma de N-N₂O.

3. A adição de esterco não teve efeito sobre os O C e N da biomassa microbiana, atividade de urease e emissão de N₂O, quando comparado ao tratamento controle.

REFERÊNCIAS

ALLEN, A. G., JARVIS, S. C. & HEADON, D. M. Nitrous oxide emissions from soils due to inputs of nitrogen from excreta return by livestock on grazed grassland in the UK. *Soil Biology & Biochemistry* 28:297-607, 1996.

BARTLETT, R.J. & ROSS, S.D. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 52:1191-1192, 1988.

BROOKES, P.C. et al. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biol. & Biochem.* 17:837-842, 1985.

CARTER, M. S. Contribution of nitrification and denitrification to N₂O emissions from urine patches. *Soil Biology and Biochemistry*, 39:2091-2102, 2007.

CHU HY, FUJII T, MORIMOTO S, LIN XG, YAGI K, HU JL, ZHANG JB. Community structure of ammonia-oxidizing bacteria under long-term application of mineral fertilizer and organic manure in a sandy loam soil. *Appl Environ Microbiol* 73:485-49, 2007.

COCHRAN, V.L.; HORTON, K.A.; COLE, C.V. An estimation of microbial death rate and limitations of N or C during wheat straw decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 20:293-298, 1988.

de KLEIN CAM, BARTON L, SHERLOCK RR, LI Z, LITTLEJOHN RP. Estimating a nitrous oxide emission factor for animal urine from some New Zealand pastoral soils. *Australian Journal of Soil Research* 41: 381-399, 2003.

HAYNES, R. J.; WILLIAMS, P. H. Nutrient cycling and soil fertility in the grazed pasture ecosystem. *Advances in Agronomy*, 49:119-199, 1993.

JENKINSON, D.S.; BROOKES, P.C.; POWLSON, D.S. Measuring soil microbial biomass, *Soil Biology and Biochemistry*, 36:5-7, 2004.

LUO, J., LINDSEY, S.B., LEDGARD, S.F. Nitrous oxide emissions from animal urine application on a New Zealand pasture. *Biology and Fertility of Soils*, 44: 463-470, 2008.

LUO, J., LINDSEY, S.B., LEDGARD, S.F. Nitrous oxide emissions from animal urine application on a New Zealand pasture. *Biology and Fertility of Soils*, 44: 463-470, 2008.

NAHAS, E.; DELFINO, J.H.; ASSIS, L.C. Atividade microbiana e propriedades bioquímicas do solo resultantes da aplicação de gesso agrícola na cultura do repolho. *Sci. agric.*, 54:160-166, 1997.

PURI, G.; ASHMAN, M.R. Relationship between soil microbial biomass and gross N mineralisation. *Soil Biology and Biochemistry*, 30:251-256, 1998.

RAIESI, F. Soil properties and N application effects on microbial activities in two winter wheat cropping system. *Biology Fertility Soils*, 40:88-92, 2004.

SHEN, W., X. LIN, et al. Higher rates of nitrogen fertilization decrease soil enzyme activities, microbial functional diversity and nitrification capacity in a Chinese polytunnel greenhouse vegetable land. *Plant and Soil*, 337:137-150, 2010.

SILVAN, N.; VASANDER, H.; KARSISTO, M.; LAINE, J. Microbial immobilisation of added nitrogen and phosphorus in constructed wetland buffer. *Applied Soil Ecology*, 24:143-149, 2003.

SMITH, J. L.; PAUL, E. A. The significance of soil microbial biomass estimation. In: BOLLAG, J. M.; STOTSKY, G. *Soil Biochemistry*, 6:357-396, 1990.

TABATABAI, M.A. & BREMNER, J.M. Assay of urease activity in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 4:479-487, 1972.

TEDESCO, M. J. GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. Análise de solo, plantas e outros materiais. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174p.

TISDALL, J.M.; OADES, J.M. Stabilization of soil aggregates by the root systems of ryegrass. *Australian Journal of Soil Research*, 17:429-441, 1979.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C. & JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.*, 19:703-707, 1987.

VARGAS, L. K.; SELBACH, P. A.; de SÁ, E. S. Imobilização de nitrogênio em solo cultivado com milho em sucessão à aveia preta nos sistemas plantio direto e convencional. *Ciência Rural*, 35:76-83, 2005.

WILLIAMS, D. L. L.; INESON, P.; COWARDS, P. A. Temporal variations in nitrous oxide fluxes from urine-affected grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, 33:1723-1732, 1999.

WILLIAMS, D.L.; INESON, P.; COWARD, P.A. Temporal variations in nitrous oxide fluxes from urine-affected grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, 31:779-788, 1999.

ZAMAN, M.; CAMERON, K.C.; DI, H.J.; INUBUSHI, K. Changes in mineral N, microbial biomass and enzyme activities in different soil depths after surface applications of dairy shed effluent and chemical fertilizer. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 63:275-290, 2002.