

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO**

**DICIANODIAMIDA (DCD) COMO INIBIDOR DA
NITRIFICAÇÃO DO NITROGÊNIO AMONIACAL DE
DEJETOS LÍQUIDOS DE SUÍNOS NO SOLO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Fernanda Stüker

Santa Maria, RS, Brasil

2010

DICIANODIAMIDA (DCD) COMO INIBIDOR DA NITRIFICAÇÃO DO NITROGÊNIO AMONIACAL DE DEJETOS LÍQUIDOS DE SUÍNOS NO SOLO

por

Fernanda Stüker

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração em Biodinâmica e Manejo do Solo, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência do Solo.**

Orientador: Prof. Dr. Celso Aita

Santa Maria, RS, Brasil

2010

S934d Stüker, Fernanda

Dicianodiamida (DCD) como inibidor da nitrificação do nitrogênio amoniacal de dejetos líquidos de suínos no solo / por Fernanda Stüker. – 2010.

77 f. ; il. ; 30 cm

Orientador: Celso Aita

Coorientador: Sandro José Giacomini

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, RS, 2010

1. Ciência do solo 2. Agrotain Plus 3. Dejetos líquidos 4. Nitrogênio
5. Carbono 6. Suínos I. Aita, Celso II. Giacomini, Sandro José I. Título.

CDU 631.4

Ficha catalográfica elaborada por Denise Barbosa dos Santos – CRB 10/1756
Biblioteca Central UFSM

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**DICIANODIAMIDA (DCD) COMO INIBIDOR DA
NITRIFICAÇÃO DO NITROGÊNIO AMONÍACAL DE
DEJETOS LÍQUIDOS DE SUÍNOS NO SOLO**

elaborada por
Fernanda Stüker

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência do Solo

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Celso Aita, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Prof. Sandro José Giacomini, Dr. (UFSM)

Prof. Cimélio Bayer, Dr. (UFRGS)

Santa Maria, 30 de junho de 2010.

Dedico

Aos meus pais, Ivone e Ilton, que são meu porto seguro, inspiração e exemplos de superação. Meu reconhecimento e gratidão pela paciência, compreensão e apoio constante.

Às minhas irmãs Adriana e Camila, exemplos de dedicação e amor, sempre ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

A meus pais, Ivone e Ilton: à minha mãe, por sempre me apoiar, me incentivar, acreditar em mim quando eu já não mais acreditava, me defender de tudo e de todos, por fazer o possível e o impossível por mim; e a meu pai, pelo apoio e confiança. Às minhas irmãs, Camila e Adriana, sobrinha Marina, e cunhados Caio e Alecsandro, por estarem sempre ao meu lado.

À Universidade Federal de Santa Maria, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo e à CAPES.

Ao Departamento de Solos, seus professores e funcionários.

Ao orientador, professor Celso Aita, pela orientação e ensinamentos. E ao co-orientador, professor Sandro José Giacomini, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos professores Zaida Inês Antonioli, Rodrigo S. J. Jacques, Leandro Souza da Silva, e Carlos Alberto Ceretta, pelo apoio, ensinamentos e amizade ao longo do curso.

À professora Rosmari Hörner, pela amizade, confiança e disponibilidade de ajudar sempre, e ao professor Cimélio Bayer, por fazer parte da banca examinadora.

Aos amigos do coração, Nathalia Haydee Riveros Ciancio, Fábio Pacheco Menezes e Marcelo Sulzbacher, pela amizade, carinho, companheirismo, incentivo. Por me animarem quando eu pensava em desistir, por me fazerem seguir em frente, pelas conversas, festas, brincadeiras... adoro vocês!

Aos colegas e amigos do laboratório de Microbiologia do Solo e do Ambiente, em especial Stefen Pujol, meu “segundo orientador”, nosso “Mestre dos Magos”, imprescindível para a realização deste trabalho, pela amizade, por estar sempre pronto pra tirar qualquer dúvida, resolver qualquer problema, auxiliar nas coletas de campo e nos experimentos em laboratório.

Aos demais colegas e amigos da Microbiologia, Fabiano Damasceno, Alexandre Doneda, Eduardo Lorensi de Souza, Ezequiel Miola, Gabriel de Franceschi dos Santos, Genuir Luiz Denega, Marciel Redin, Véra Simon, Marta Eliane Doumer.

Aos bolsistas do laboratório, Diego Giacomini, Rogério Gonzatto, Juliano Olivo, Thiago Castro, Pedro Maschio, Elenize Nicoletti, Patrícia Vargas, Etiane Mallmann, Douglas Menegol, Carlos Pizolotto, e os agora mestrandos Janquiele Schirmann, Andressa Ballem e Jackson Cerini, pela ajuda no campo, no laboratório, pela amizade, e por tornar os dias de trabalho mais agradáveis. Aos demais amigos do laboratório, entre eles: Luana, Raquel, Eduarda, Douglas, Ricardo, Leonardo.

Aos amigos Juliana Lorensi, Enrique Leon, Gerusa Steffen, Ricardo Steffen, André Copetti, Marta Drescher, Deisy Morales, Cledimar Lourenzi, Darines Britzke, Gerônimo Prado, Fabiana Dornelles, Fábio Mallmann, Marta da Rocha, Viviane Capoane e demais colegas do PPGCS.

Agradeço a Stephan Hermes Chagas e família, pelo apoio, incentivo e confiança desde o início do mestrado.

A todos os meus amigos e familiares, pela amizade, apoio e incentivo sempre, mesmo sem entender direito o porquê de se estudar os dejetos!

Agradeço às demais pessoas não citadas aqui, mas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada a todos!

“A certeza absoluta é para os ignorantes. A dúvida é que leva adiante.”

(Richard Dawkins)

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo
Universidade Federal de Santa Maria

DICIANODIAMIDA (DCD) COMO INIBIDOR DA NITRIFICAÇÃO DO NITROGÊNIO AMONIAICAL DE DEJETOS LÍQUIDOS DE SUÍNOS NO SOLO

Autora: Fernanda Stüker
Orientador: Celso Aita

Data e local da defesa: Santa Maria, 30 de junho de 2010.

A inibição da nitrificação do nitrogênio (N) amoniacal dos dejetos de suínos, após sua aplicação no solo, poderá mitigar as perdas de N por desnitrificação e lixiviação de nitrato (NO_3^-), com benefícios econômicos e ambientais. Todavia, essa estratégia ainda não foi avaliada pela pesquisa brasileira, o que motivou a realização do presente trabalho. O objetivo foi o de avaliar a eficiência do produto Agrotain Plus, que contém 81% do inibidor dicianodiamida (DCD), em retardar a nitrificação do N amoniacal aplicado ao solo com dejetos líquidos de suínos. Para isso, foram realizadas duas incubações sob condições controladas de umidade (80% cc) e de temperatura (25°C), onde a nitrificação foi avaliada através do acúmulo de NO_3^- no solo. Na primeira incubação, conduzida durante 72 dias, foram comparadas as doses de 3,5, 7,0 e 14 kg de Agrotain Plus ha^{-1} , aplicadas ao solo no momento da adição dos dejetos (29,4 $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$). A dicianodiamida (DCD) inibiu a nitrificação do N amoniacal dos dejetos, sendo que a magnitude e a duração da inibição foram dependentes da dose de Agrotain Plus aplicada. Na dose de 14 kg ha^{-1} (11,3 kg de DCD ha^{-1}) a nitrificação foi completamente inibida nos primeiros 12 dias. Durante o primeiro mês após a aplicação dos dejetos, onde a nitrificação foi mais intensa, o aumento na dose de Agrotain Plus em 1 kg ha^{-1} (0,81 kg de DCD ha^{-1}) reduziu o acúmulo de N-NO_3^- em 3,8 kg ha^{-1} . Na segunda incubação foi avaliado, durante 60 dias, o efeito dessas mesmas três doses de Agrotain Plus sobre a atividade microbiana do solo. Além disso, avaliou-se o efeito da dose de 7,0 kg ha^{-1} do produto na inibição da nitrificação do N amoniacal dos dejetos (34 $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$) e na mineralização do C e do N dos mesmos. O efeito do inibidor de nitrificação foi semelhante ao observado na primeira incubação, enquanto a mineralização do N dos dejetos e a atividade microbiana do solo não foram afetadas pela adição do produto Agrotain Plus. Os resultados desse trabalho sugerem que a dicianodiamida (DCD), ao retardar o aparecimento de N-NO_3^- no solo após a aplicação dos dejetos de suínos, reduz as perdas de N e o potencial poluidor dos dejetos.

Palavras-chave: Agrotain plus; DCD; dejetos; dinâmica do N; mineralização do C.

ABSTRACT

Dissertation of Master's degree
Graduate Program in Soil Science
Universidade Federal de Santa Maria

DICYANDIAMIDE (DCD) AS NITRIFICATION INHIBITOR OF AMMONIA NITROGEN OF PIG SLURRY IN SOIL

Author: Fernanda Stüker
Advisor: Celso Aita

Date and Place of Defense: Santa Maria, June 30, 2010.

Inhibition of nitrification of ammonia nitrogen (N) from pig slurry in soil after application can mitigate N losses by denitrification and leaching of nitrate (NO_3^-), with economic and environmental benefits. However, this strategy has not yet been evaluated by Brazilian research, which motivated the present work. The objective was to evaluate the efficiency of the product AGROTAIN Plus, which contains 81% of the inhibitor dicyandiamide (DCD), in slowing the nitrification of ammonium N applied to soil with pig slurry. For this, two incubations were performed under controlled humidity (80% cc) and temperature (25°C), where nitrification was assessed by the accumulation of NO_3^- in soil. In the first incubation conducted for 72 days, doses of 3.5, 7.0 and 14 kg ha⁻¹ of AGROTAIN Plus were compared, applied to the soil at the time of the manure addition (29.4 m³ ha⁻¹). The dicyandiamide (DCD) inhibited the nitrification of N ammonia from manure, and the size and duration of this inhibition was dependent on the dose of AGROTAIN Plus applied. At a dose of 14 kg ha⁻¹ (11.3 kg DCD ha⁻¹) nitrification was completely inhibited in the first 12 days. During the first month after the manure application, where nitrification was more intense, increasing the dose of AGROTAIN Plus in 1 kg ha⁻¹ (0.81 kg DCD ha⁻¹) reduced the N- NO_3^- accumulation in 3,8 kg ha⁻¹. In the second incubation, evaluated for 60 days, was studied the effect of these same three doses of AGROTAIN Plus on soil microbial activity. Besides that, was evaluated the effect of the 7.0 kg ha⁻¹ dose of product in inhibiting nitrification of N ammonia from pig slurry (34 m³ ha⁻¹) and the mineralization of pig slurry C and N. The effect of the nitrification inhibitor was similar to that observed in the first incubation, while the manure N mineralization and soil microbial activity were not affected by the AGROTAIN Plus addition. The findings suggest that dicianodiamida (DCD), by delaying the onset of N- NO_3^- in soil after application of pig slurry, reduces the N losses and the polluting potential of slurry.

Keywords: AGROTAIN plus; DCD, slurry; N dynamics; C mineralization.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 - Dispositivo utilizado para análise da evolução do CO ₂ . (a) frasco de vidro contendo a solução de NaOH para captação de CO ₂ ; (b) frasco de acrílico contendo os tratamentos; (c) frascos acondicionados na incubadora.....	29
FIGURA 1.2 - Frascos de vidro contendo no seu interior três frascos de acrílico (a), com as repetições dos tratamentos e um frasco menor (b) com água para repor as perdas por evaporação.....	30
FIGURA 1.3 - Quantidades de N mineral no solo em cada data de avaliação, no tratamento testemunha (S) e nos tratamentos com adição de dejetos líquidos de suínos (DLS) sem e com Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 kg ha ⁻¹	33
FIGURA 1.4 - Quantidades de N-NH ₄ ⁺ (a) e de N-NO ₃ ⁻ (b) no solo em cada data de avaliação, no tratamento testemunha (S) e nos tratamentos com adição de dejetos líquidos de suínos (DLS) sem e com Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 kg ha ⁻¹	35
FIGURA 1.5 - Proporção de N-NH ₄ ⁺ (a) e de N-NO ₃ ⁻ (b) no solo em cada data de avaliação, nos tratamentos com adição de dejetos líquidos de suínos (DLS) sem e com Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 kg ha ⁻¹	39
FIGURA 1.6 - Equações lineares ajustadas aos valores observados para a produção líquida de N-NO ₃ ⁻ , nos primeiros 29 dias no solo do tratamento com uso exclusivo de dejetos (DLS), primeiros 50 dias nos tratamentos em que os dejetos receberam Agrotain Plus nas doses de 3,5 e 7,0 kg ha ⁻¹ e durante todo o experimento (72 dias) no tratamento com a dose de 14 kg de Agrotain Plus ha ⁻¹	41
FIGURA 1.7 - Relação entre as doses de Agrotain Plus, aplicadas juntamente com os dejetos, e as quantidades de N-NH ₄ ⁺ e N-NO ₃ ⁻ no solo na amostragem realizada aos 29 dias	43
FIGURA 1.8 - Mineralização do N durante a incubação, nos tratamentos com uso de dejetos, sem e com Agrotain Plus, nas doses de 3,5, 7,0 e 14 kg ha ⁻¹	45
FIGURA 1.9 - Liberação cumulativa de CO ₂ em mg de C-CO ₂ kg ⁻¹ de solo nos tratamentos sem dejetos (S), com uso exclusivo de dejetos (S + DLS) e com dejetos mais Agrotain Plus, nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 kg ha ⁻¹	48
FIGURA 1.10 - Liberação cumulativa de CO ₂ (% do C adicionado) nos tratamentos com dejetos (DLS) e com dejetos mais Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 kg ha ⁻¹ .	49

FIGURA 2.1 - Quantidades de N mineral no solo em cada data de avaliação, no tratamento testemunha (S) e nos tratamentos com Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 kg ha⁻¹, e com dejetos suínos (DLS)..... 59

FIGURA 2.2 - Mineralização do N dos dejetos líquidos de suínos (DLS), quando utilizados isoladamente ou junto com Agrotain Plus (AP), na dose de 7 kg ha⁻¹..... 60

FIGURA 2.3 - Quantidades de N-NH₄⁺ (a) e N-NO₃⁻ (b) no solo em cada data de avaliação durante os 60 dias, no tratamento testemunha (S) e nos tratamentos com Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 kg ha⁻¹, e com dejetos suínos (DLS)..... 62

FIGURA 2.4 - Proporção de N-NH₄⁺ (a) e de N-NO₃⁻ (b) no solo em cada data de avaliação durante os 60 dias, no tratamento testemunha (S) e nos tratamentos com Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 kg ha⁻¹, e com dejetos suínos (DLS)..... 65

FIGURA 2.5 - Liberação cumulativa de C-CO₂ no tratamento testemunha (S) e nos tratamentos com Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 kg ha⁻¹, e com dejetos suínos (DLS). 69

FIGURA 2.6 - C mineralizado em relação à % de C adicionado ao solo, nos tratamentos com dejetos de suínos (DLS) e dejetos mais Agrotain Plus (AP), na dose de 7 kg ha⁻¹ 70

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 - Teores de matéria seca (MS), carbono (C) e nitrogênio (N) nos dejetos líquidos de suínos (em base úmida), valores de pH e C/N e quantidades de MS, C e N adicionadas ao solo com os dejetos e de C e N com Agrotain Plus.....	26
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AP	Agrotain Plus
C	Carbono
DAI	Dias após incubação
DCD	Dicianodiamida
DLS	Dejeto Líquido Suíno
DMPP	3,4 dimetil pirazol fosfato
NBTP	N-(n-butil) triamida tiofosfórica
MOS	Matéria orgânica do solo
MS	Matéria seca
N	Nitrogênio
N-NH ₄ ⁺	Nitrogênio amoniacal
N-NO ₃ ⁻	Nitrogênio nítrico
UFSM	Universidade Federal de Santa Maria

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	16
1.1 Hipóteses	19
1.2 Objetivo	19
2 CAPÍTULO 1	20
2.1 Introdução	20
2.2 Material e Métodos	24
2.2.1 Solo	25
2.2.2 Características dos dejetos líquidos de suínos	25
2.2.3 Inibidor de nitrificação	26
2.2.4 Tratamentos	27
2.2.5 Incubação	27
2.2.5.2 Emissão de C-CO ₂	28
2.2.5.3 N mineral do solo	29
2.2.5.4 Cálculo da mineralização aparente do C e do N	30
2.2.5 Cálculo das taxas de nitrificação	31
2.2.6 Análise estatística	31
2.3 Resultados e Discussão	31
2.3.1 Dinâmica do N mineral total	31
2.3.2 Dinâmica do N nas formas de amônio (NH ₄ ⁺) e nitrato (NO ₃ ⁻)	32
2.3.3 Efeito da dicianodiamida (DCD) na nitrificação do N amoniacal dos dejetos	37
2.3.4 Mineralização do N dos dejetos	44
2.3.5 Mineralização do C	47
2.4 Conclusões	50
3 CAPÍTULO 2	51
3.1 Introdução	51
3.2 Material e Métodos	53
3.2.1 Solo	53
3.2.2 Características dos dejetos líquidos de suínos	54
3.2.3 Tratamentos	54
3.2.4 Incubação	54
3.2.5 Avaliações	56
3.2.5.1 Emissão de C-CO ₂	56
3.2.5.1.1 Cálculo da mineralização do C dos dejetos	56
3.2.5.2 N mineral do solo	57
3.2.5.2.1 Estimativa das taxas de nitrificação do N amoniacal	57
2.2.5.4 Cálculo da mineralização do N dos dejetos	57
3.2.6 Análise estatística	58
3.3 Resultados e Discussão	58
3.3.1 Efeito do Agrotain Plus sobre a mineralização do N do solo	58
3.3.2 Efeito do Agrotain Plus sobre a mineralização do N dos dejetos	60
3.3.3 Efeito do Agrotain Plus sobre a taxa de nitrificação do N amoniacal dos dejetos	61
3.3.4 Efeito do Agrotain Plus sobre a atividade microbiana do solo	67
3.4 Conclusões	71
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

1 INTRODUÇÃO GERAL

A suinocultura é uma das atividades econômicas mais importantes do Rio Grande do Sul, sendo que o consumo da carne suína nos últimos anos no Brasil e no mundo já é maior do que o de carnes bovinas e de frango (PUJOL, 2008). Apenas a China, a União Européia e os Estados Unidos superam o Brasil no mercado mundial de suínos, sendo que a região Sul, com destaque para o estado de Santa Catarina, concentra 45% do efetivo de animais (IBGE, 2010).

Na suinocultura, predominam os sistemas de confinamento total dos animais, os quais são caracterizados pela geração de volumes elevados de dejetos líquidos (fezes, urina, sobras de água e de alimentos, etc.). Um destino freqüente desse resíduo orgânico é o seu uso como fertilizante de lavouras e pastagens, devido a seu alto teor de nutrientes, especialmente de nitrogênio (N). Todavia, após a aplicação dos dejetos no campo e, sob condições ambientais favoráveis, podem ocorrer emissões para a atmosfera de formas gasosas de carbono (C) e de N de grande impacto ambiental, com destaque para CO_2 , CH_4 , NH_3 e N_2O (CHANTIGNY et al., 2001; SINGH et al., 2008a).

O nitrogênio é o nutriente exigido em maior quantidade pela maioria dos vegetais, além de apresentar uma dinâmica extremamente complexa devido à diversidade de formas químicas, reações e processos nos quais está envolvido. Nos dejetos líquidos de suínos, a maior fração de nitrogênio apresenta-se na forma de nitrogênio amoniacal ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$) e, por isso, está suscetível a perdas principalmente devido à volatilização da amônia (NH_3), tanto durante o armazenamento dos dejetos (LOYON et al., 2006) quanto após sua aplicação no campo (CHANTIGNY et al., 2001).

A volatilização de NH_3 tende a ser maior com a aplicação dos dejetos em plantio direto, já que nesse sistema apenas a fração líquida dos dejetos infiltra no solo e fica protegida da ação da temperatura e dos ventos, que constituem os principais fatores climáticos controladores desse processo de perda de N para a atmosfera (SOMMER et al., 2003). Após ser volatilizada, a amônia pode reagir com compostos presentes na atmosfera e retornar ao solo através de partículas secundárias, tais como sais de amônio [NH_4HSO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e NH_4NO_3], provocando a eutrofização de fontes d'água e o desequilíbrio de ecossistemas

(DÄMMGEN; HUTCHINGS, 2008). Portanto, a perda de N por volatilização de NH_3 , cuja magnitude depende das condições meteorológicas e das características dos dejetos e do solo e pode variar de 0 a 60% do N amoniacal aplicado, conforme diversos autores citados em uma revisão sobre o assunto por Sommer et al. (2003), representa poluição ambiental e redução do potencial fertilizante nitrogenado dos dejetos.

O N adicionado ao solo na forma de uréia, de sulfato de amônio $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ e de compostos orgânicos presentes em materiais como dejetos de animais e resíduos vegetais, é rapidamente transformado por inúmeros processos biológicos e químicos (FRYE, 2005; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). O principal produto final dessas transformações é o nitrato (NO_3^-), produzido através do processo de nitrificação. Essa forma de N mineral é instável e móvel no solo, podendo ser transportada para os mananciais de superfície e/ou ser lixiviada e atingir o lençol freático onde, dependendo da sua magnitude, pode provocar contaminação. Além disso, algumas bactérias podem utilizar o NO_3^- no seu catabolismo, alternativamente ao O_2 , reduzindo-o para formas gasosas de N no processo de desnitrificação. Uma das formas gasosas de N, intermediária desse processo biológico, é o óxido nitroso (N_2O), o qual é mais efetivo em absorver energia térmica que o CO_2 (FRYE, 2005), além de possuir um tempo de residência na atmosfera de 132 anos. Tais características conferem ao N_2O um potencial de aquecimento global (PAG) superior ao CO_2 em aproximadamente 296 vezes (SUBBARAO et al., 2006). Portanto, a manutenção do N mineral do solo na forma de NH_4^+ durante o maior período de tempo possível pode reduzir as perdas de N por lixiviação e desnitrificação e melhorar as conseqüências ecológicas freqüentemente associadas ao uso de fertilizantes nitrogenados e dejetos animais (FRYE, 2005).

Uma das estratégias para preservar o N dos dejetos na forma de NH_4^+ , após sua aplicação no campo, melhorando o aproveitamento desse nutriente pelas culturas e reduzindo as perdas de N decorrentes do NO_3^- , consiste no uso de produtos inibidores da nitrificação. A Dicianodiamida (DCD) tem sido um dos produtos mais usados para esse fim em outros países, com destaque para a Nova Zelândia (COOKSON; CORNFORTH, 2002; MOIR et al., 2007; ZAMAN et al., 2009), e possui ação bacteriostática, inibindo o primeiro estágio da nitrificação, que consiste na oxidação de NH_3 para nitrito (NO_2^-), principalmente por *Nitrosomonas europaea* (MOIR et al., 2007; SINGH et al., 2008b). Com isso, ocorre também a redução na

taxa de formação de NO_3^- (FRYE, 2005). De acordo com Edmeades (2004), DCD age especificamente sobre a enzima amônia monooxigenase, bloqueando o sítio ativo onde a amônia é convertida em nitrito.

A mistura de inibidores de nitrificação a inibidores de urease tem sido utilizada para mitigar as perdas de N por volatilização de NH_3 , lixiviação de NO_3^- e emissão de N_2O em algumas situações como, por exemplo, em pastagem da Nova Zelândia com o consórcio de gramínea (*Lolium perenne* L.) e leguminosa (*Trifolium repens* L.) e com elevada carga animal (3 vacas em lactação ha^{-1}). Nessa, situação Zaman et al. (2009) e Zaman; Blennerhassett (2010) adicionaram urina bovina (600 kg de N ha^{-1}) em parcelas e em lisímetros, respectivamente. A adição ao solo, juntamente com a urina, de uma mistura constituída por DCD (7 kg ha^{-1}) e um inibidor de urease (3L ha^{-1}), com denominação comum de “Agrotain” e composto por N-(n-butil) triamida tiofosfórica (NBPT), foi efetiva na redução da hidrólise da uréia e na retenção de N na forma de N-NH_4^+ , reduzindo as emissões de NH_3 e N_2O e aumentando a produção da pastagem.

Um produto que está sendo introduzido no Brasil para melhorar a eficiência principalmente da uréia, como fertilizante, é o “Agrotain Plus”, constituído pela mistura de NBPT e DCD. Em outros países, quando essa mistura de inibidores foi avaliada em dejetos de animais ela ocorreu em urina de vacas em lactação (MENNEER et al., 2008; ZAMAN et al., 2009; ZAMAN; BLENNERHASSETT, 2010), onde a maior parte do N (80%) encontra-se na forma de uréia (ZAMAN et al., 2007). No Brasil, não foram encontrados resultados de pesquisa com NBPT e DCD, utilizados separadamente ou em conjunto, quando da aplicação de dejetos de animais ao solo. A importância econômica e ambiental dos dejetos líquidos de suínos evidencia a necessidade em iniciar as pesquisas nessa área no Brasil, partindo-se de experimentos conduzidos sob condições controladas de laboratório.

Neste trabalho foram conduzidos dois experimentos de incubação sob condições controladas de laboratório, em que dejetos líquidos de suínos foram incorporados ao solo na presença e ausência de Agrotain Plus. No primeiro experimento foi dada ênfase à avaliação do efeito de doses variadas desse produto sobre a taxa de nitrificação do N amoniacal dos dejetos. Já no segundo experimento foi avaliado o efeito dessas mesmas doses de Agrotain Plus sobre a atividade microbiana do solo, além do efeito da dose de 7 kg ha^{-1} do produto sobre a

nitrificação, após aplicação dos dejetos. Ambos os experimentos serviram também à estimativa da mineralização do carbono (C) e do N no solo com o uso dos dejetos.

1.1 Hipóteses

A dicianodiamida (DCD) presente no Agrotain Plus e adicionada aos dejetos líquidos de suínos retarda a nitrificação do N amoniacal no solo;

A inibição da nitrificação pela DCD preserva o N amoniacal dos dejetos, favorecendo a imobilização microbiana de N;

O efeito inibitório da nitrificação pela DCD depende da dose utilizada.

1.2 Objetivo

O objetivo desse trabalho foi avaliar, em condições controladas de laboratório, a eficiência do produto Agrotain Plus como inibidor da nitrificação do N de dejetos líquidos de suínos no solo e seu efeito sobre a atividade microbiana do solo.

2 CAPÍTULO 1

Nitrificação do nitrogênio amoniacal de dejetos líquidos de suínos no solo, afetada pela adição de dicianodiamida (DCD)

2.1 Introdução

A utilização de dejetos líquidos de suínos, constituídos pela mistura de fezes, urina e sobras de água e alimentos, é uma prática comumente empregada no Rio Grande do Sul (PORT et al., 2003). A elevada concentração de nitrogênio deste tipo de resíduo orgânico, principalmente na forma amoniacal, torna-o uma fonte potencial deste elemento para as plantas. No entanto, pelo fato de ser um gás em condições normais de temperatura e pressão atmosférica, a amônia presente em dejetos animais pode rapidamente volatilizar para a atmosfera e reagir com prótons, metais e compostos ácidos para formar íons ou outros compostos que variam em estabilidade (BASSO et al., 2004; DUARTE, 2006).

Portanto, como a maior parte do N total dos dejetos suínos encontra-se na forma amoniacal (SOMMER; HUSTED, 1995), é de fundamental importância o estudo das transformações sofridas por essa fração de N no solo. A quantidade de nitrato (NO_3^-) no solo depende da velocidade de reação da nitrificação sofrida pela amônia. Se a taxa de nitrificação for alta, haverá produção elevada de NO_3^- , muitas vezes em uma época em que a necessidade de N pelas culturas ainda é pequena. Caso as precipitações nesse período sejam freqüentes, o N pode ser perdido através da lixiviação de NO_3^- , uma vez que o N nítrico é solúvel em água e possui baixa energia de ligação com os colóides do solo.

O excesso de nitrato no solo também pode provocar o acúmulo desta forma de N nas plantas, o que pode comprometer sua qualidade no que diz respeito ao consumo humano e animal, além da possibilidade de redução do NO_3^- até N_2 em condições de baixa disponibilidade de O_2 , através do processo de desnitrificação, cujo produto intermediário é o óxido nitroso (N_2O), um gás agravador do efeito estufa. Por outro lado, se a amônia dos dejetos for lentamente nitrificada, poderão

ocorrer maiores perdas de N por volatilização da amônia, o que reduz o potencial fertilizante dos dejetos (AITA et al., 2007; ASING et al., 2008).

O uso de inibidores de nitrificação é uma estratégia que vem sendo empregada visando retardar a nitrificação e minimizar os possíveis impactos negativos decorrentes do excesso de nitrato no solo (SINGH et al., 2008a; TAO et al., 2008). Tais produtos interferem na atividade de *Nitrosomonas* spp., que são as bactérias responsáveis pela primeira etapa da nitrificação, que consiste na oxidação de amônia até nitrito. Já os inibidores de urease reprimem a transformação do N da uréia presente no dejetos em hidróxido de amônio (NH_4OH) e amônio (NH_4^+) e, conseqüentemente, reduzem a volatilização da amônia, assim como a posterior lixiviação de nitrato (MANUNZA et al., 1999; BARTH, 2009; MARCELINO, 2009). Os principais produtos empregados para inibir a nitrificação e a ação da urease são a dicianodiamida (DCD) e o N-(n-butil) triamida tiofosfórica (NBPT), respectivamente. Após a formação do complexo urease-NBPT, a probabilidade da uréia se ligar à urease é reduzida, pois os sítios ativos da enzima já estão ocupados pelo NBPT (MANUNZA et al., 1999).

Em dejetos de animais, a eficiência do NBPT tem sido avaliada para preservar o N amoniacal em ambientes ricos em urina, como em áreas com pastoreio intensivo de vacas em lactação (MENNEER et al., 2008; ZAMAN et al., 2009; ZAMAN; BLENNERHASSETT, 2010) e em confinamentos de bovinos de corte (VAREL et al., 1999). O único trabalho encontrado, envolvendo o uso de NBPT em dejetos de suínos, foi feito em laboratório, a 25°C, por Panetta et al. (2005). Os autores coletaram esterco fresco e misturaram com água na proporção de 1:1 (v/v) antes de adicionarem NBPT, nas doses de 76 $\mu\text{L/L}$ (recomendação do produto) e 152 $\mu\text{L/L}$, e estocarem a mistura em frascos de PVC durante 24, 48, 72 e 96 horas. Os frascos eram munidos de um dispositivo que possibilitava o acúmulo da amônia gerada em cada tratamento. A análise da concentração de NH_3 ao final de cada período de estocagem mostrou que o NBPT, na dose recomendada, não afetou a emissão de NH_3 , em relação ao tratamento controle (sem NBPT) e, quando a dose foi duplicada, a emissão de NH_3 aumentou em 140%. Esses resultados não dão suporte à função preconizada para NBPT como inibidor da enzima urease e contrariam os resultados de Varel et al. (1999), onde o NPBT adicionado na dose 2,28 $\text{g m}^{-2} \text{semana}^{-1}$ durante seis semanas em piquetes de 15 x 150 m com 70 bovinos confinados resultou em redução na concentração de uréia e de amônia dos

dejetos e aumentou a concentração de N total, mostrando claramente o efeito inibitório do NBPT sobre a enzima urease. Tais resultados contraditórios foram justificados por Panetta et al. (2005) pelo fato da adição do NBPT ter sido efetuada apenas uma vez nos dejetos de suínos, quando a urease já havia convertido a uréia dos dejetos em amônia. Conforme constatado por Varel (1997) a uréia contida em dejetos (mistura de fezes e urina na proporção de 1:1, g:g) de bovinos confinados (3,3 g de uréia L⁻¹) e de suínos (4,8 g de uréia L⁻¹) foi completamente hidrolisada em apenas um dia. Essa constatação, somada aos resultados de Panetta et al. (2005), evidencia que a adição de inibidores de urease em dejetos que tenham sido armazenados antes da sua aplicação no campo deve ser totalmente inócua no controle das perdas de N por volatilização de NH₃.

Uma estratégia ainda relativamente pouco utilizada para melhorar a eficiência do N dos dejetos de animais e reduzir a contaminação ambiental provocada pelos mesmos consiste em misturar um inibidor de urease a um inibidor de nitrificação para adição aos dejetos, no momento da sua aplicação no solo. Quando Zaman et al. (2009) adicionaram a mistura de NBPT (Agrotain) + DCD, na proporção de 3L ha⁻¹ + 7 kg ha⁻¹, à urina de vacas (600 kg de N ha⁻¹) na Nova Zelândia, verificaram que houve uma redução na emissão de NH₃, em relação à urina sem inibidores, em 14%, 78% e 9% no outono, primavera e verão, respectivamente. A redução correspondente na emissão de N₂O foi de 37%, 67% e 28%. As mudanças observadas pelos autores nos teores de N mineral do solo sugeriram que o Agrotain retardou a hidrólise do N da urina enquanto DCD reduziu a nitrificação. Na mesma condição de solo e de clima e aplicando a mesma dose de N-urina ao solo, Zaman; Blennerhassett (2010) observaram que a mistura de Agrotain + DCD, na proporção respectiva de 1L ha⁻¹ + 7 kg ha⁻¹, foi mais efetiva do que em proporções maiores (1:10, 2:7 e 2:10 de Agrotain:DCD, volume:massa) em reduzir as perdas de N por emissão de NH₃, de N₂O e lixiviação de NO₃⁻ e em aumentar a produção e o acúmulo de N pela pastagem.

No Brasil, está sendo introduzido um produto com a denominação de Agrotain Plus, o qual contém em sua formulação a mistura de NBPT (6,5%) e DCD (81%) e tem como objetivo principal o de preservar o N de fertilizantes, principalmente uréia, após sua aplicação no campo. Em função da grande disponibilidade de dejetos líquidos de suínos na região sul do Brasil, do elevado teor de N amoniacal dos mesmos e dos problemas ambientais resultantes disso, há interesse em difundir o

uso desse produto para adição aos dejetos no momento de sua aplicação no campo. Espera-se que, nessa situação, o N da uréia presente originalmente dos dejetos já tenha sido hidrolisado durante o armazenamento dos mesmos e, por isso, o produto atue exclusivamente como o inibidor de nitrificação, em razão da presença de DDC. Essa hipótese também foi formulada por Carley (2007) ao aplicar, juntamente com dejetos de suínos, um produto comercial contendo a mistura de um inibidor de urease e DCD.

Diversos fatores interferem na intensidade bem como na duração do efeito inibitório da nitrificação pela dicianodiamida (DCD), com destaque para a temperatura, a matéria orgânica, o pH, o tipo de solo e a dose do produto (RAJBANSHI et al., 1992; SOMMER et al., 2003; KELLIHER et al., 2008). Em experimento realizado em laboratório por Pereira et al. (2010), os autores constataram que a adição de DCD em dejetos líquidos de bovinos (soma das frações líquida e sólida) inibiu a nitrificação durante 16 dias. Quando o produto foi misturado apenas à fração líquida, esse período inibitório aumentou para 23 dias. Em casa de vegetação, Williamson et al. (1996) verificaram que a mistura de DCD, em dose equivalente a $170 \mu\text{g}$ de N-DCD g^{-1} de solo (base seca), aos dejetos líquidos coletados na sala de ordenha de vacas em lactação (fezes + urina + água de lavagem), reduziu a lixiviação de NO_3^- , aumentou a imobilização microbiana de N e preservou maior quantidade de NH_4^+ no solo durante 99 dias, em relação ao tratamento com dejetos e sem DCD.

Em dejetos de suínos, o efeito do inibidor de nitrificação DCD sobre a dinâmica do N no solo ainda é relativamente pouco documentada e os poucos resultados existentes são contraditórios. Em uma incubação conduzida durante 21 dias a 21°C , Mkhabela et al. (2006) não encontraram efeito do inibidor DCD sobre as emissões de NH_3 e N_2O após a adição de dejetos líquidos de suínos, na dose de $116 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$. Cabe destacar nesse trabalho as elevadas quantidades adicionadas ao solo de DCD (66 kg ha^{-1}) e de N com os dejetos ($325 \text{ kg de N ha}^{-1}$). Por outro lado, redução nas taxas de nitrificação e de lixiviação de N foram observadas por Vallejo et al. (2005) quando DCD ($10 \text{ kg de N-DCD ha}^{-1}$) foi injetado no solo juntamente com dejetos líquidos de suínos ($200 \text{ kg de N ha}^{-1}$) em um solo irrigado da Espanha.

O único trabalho encontrado, em que um produto comercial (Super N Concentrate), contendo um inibidor de urease e DCD, foi aplicado ao solo juntamente com dejetos líquidos de suínos, foi aquele realizado por Carley (2007) no

Canadá. O produto foi aplicado e misturado aos dejetos na dose de $0,275 \text{ mL kg}^{-1}$ de dejetos líquidos, os quais foram injetados no solo em dose equivalente a $37 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ ($\sim 100 \text{ kg de N total ha}^{-1}$). Apesar de o autor ter constatado que a DCD apresentou efeito na inibição da nitrificação, aumentando o teor de NH_4^+ no solo e reduzindo o teor de NO_3^- nos períodos iniciais, em relação ao tratamento com injeção dos dejetos sem DCD, não houve efeito no acúmulo de N pelas culturas do trigo e do linho. Por isso, o autor concluiu que o benefício da adição de DCD será provavelmente maior quando a inibição da nitrificação coincidir com períodos de maior potencial de perdas de N por lixiviação de NO_3^- ou desnitrificação.

A carência de informações de pesquisa no Brasil, envolvendo o uso de inibidores de nitrificação para melhorar a eficiência dos dejetos de suínos como fonte de N e para mitigar o potencial poluidor dos mesmos, aliada ao elevado volume de dejetos gerados pela suinocultura, motivaram a realização do presente trabalho. O objetivo principal foi o de avaliar, sob condições de laboratório, a eficiência da adição de Agrotain Plus em dejetos líquidos de suínos sobre a nitrificação do N amoniacal dos dejetos no solo. Além disso, avaliou-se também o efeito do Agrotain Plus sobre a atividade microbiana do solo e sobre a mineralização do N dos dejetos.

Em razão dos dejetos terem sido armazenados em esterqueira anaeróbia, previamente a sua aplicação ao solo, será considerado que, durante o armazenamento, o N na forma de uréia dos dejetos já foi completamente convertido em NH_4^+ pela ação da urease. Por isso, embora o Agrotain Plus, utilizado no presente trabalho, seja constituído da mistura de NBPT + DCD, assume-se que o NBPT não terá efeito na inibição da enzima urease e que o efeito inibitório do produto ocorra apenas na nitrificação, através da ação da dicianodiamida (DCD).

2.2 Material e Métodos

O trabalho iniciou com a coleta do solo em 15 de agosto de 2009 e consistiu de duas incubações, conduzidas durante 72 dias sob as mesmas condições, no Laboratório de Microbiologia do Solo e do Ambiente do Departamento de Solos, na Universidade Federal de Santa Maria. Uma incubação serviu à avaliação do efeito dos tratamentos sobre a liberação de CO_2 e outra sobre a dinâmica do N mineral no solo.

2.2.1 Solo

O solo foi coletado na área experimental do Departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria, localizada na depressão central do estado do Rio Grande do Sul. Ele é classificado como Argissolo Vermelho Distrófico arênico (EMBRAPA, 2006) e foi coletado na camada de 0-10 cm. Na área em que o solo foi coletado vinha sendo cultivado milho em plantio direto desde 1998, sendo que a coleta foi realizada em parcela onde nunca havia sido utilizada adubação nitrogenada. Após a retirada dos resíduos culturais remanescentes na superfície, o solo foi coletado e transportado ao laboratório para homogeneização e peneiramento em malha de 4 mm, permanecendo armazenado úmido em sacos plásticos, em temperatura ambiente, até o momento da incubação, em 19 de agosto de 2009. As principais características químicas e físicas do solo foram as seguintes: pH água (1:1) = 5,0; MO (%) = 2,6%; Argila (%) = 24%; P (mg/dm³) = 3,0; K (mg/dm³) = 48; Al (cmol_c/dm³) = 2,0; Ca (cmol_c/dm³) = 1,4; Mg (cmol_c/dm³) = 0,6.

2.2.2 Características dos dejetos líquidos de suínos

Os dejetos líquidos de suínos foram coletados no dia 18 de agosto de 2009 em esterqueira anaeróbica de uma granja localizada no distrito de Arroio Grande (Santa Maria, RS) dedicada à terminação de suínos. Foram realizadas duas coletas nessa mesma esterqueira, uma amostra proveniente da superfície (mais pastosa) e outra do fundo (mais líquida) da esterqueira, as quais foram misturadas posteriormente, com porções de 25% e 75% de cada amostra, respectivamente. Uma alíquota dos dejetos foi mantida em estufa a 65°C até peso constante a fim de se determinar a matéria seca dos mesmos. Em outra amostra foram determinados os teores de N total e N amoniacal segundo metodologia descrita por Tedesco et al. (1995). Além dessas características, foi analisado o teor de C da amostra seca em estufa a 65°C por combustão seca (DUMAS) em um analisador elementar CHNS modelo FlashEA 1112 marca THERMO ELECTRON e o pH, que foi determinado diretamente em uma alíquota de aproximadamente 60 ml de dejetos. As principais características dos dejetos, bem como as quantidades adicionadas ao solo de matéria seca, carbono e nitrogênio com os dejetos e com Agrotain Plus encontram-se na Tabela 1.1.

Tabela 1.1 - Teores de matéria seca (MS), carbono (C) e nitrogênio (N) nos dejetos líquidos de suínos (em base úmida), valores de pH e C/N e quantidades de MS, C e N adicionadas ao solo com os dejetos e de C e N com Agrotain Plus.

Material	MS	C	N total	N amoniacal	N orgânico	C/N	pH
	g kg ⁻¹						
Dejetos líquidos ⁽¹⁾	50,1	20,3	3,58	1,85	1,74	5,7	7,24
Agrotain Plus ⁽²⁾	—	270	580	—	—	0,46	—
	mg kg ⁻¹ de solo						
Dejetos líquidos	2459	996	175,7	90,7	85,3	—	—
Agrotain Plus (3,5 kg ha ⁻¹) ⁽³⁾	—	1,57	3,38	—	—	—	—

⁽¹⁾ Resultados expressos em base úmida.

⁽²⁾ As concentrações de C e N do Agrotain Plus foram determinadas por combustão seca (DUMAS) em um analisador elementar CHNS modelo FlashEA 1112, marca THERMO ELECTRON.

⁽³⁾ As quantidades de C e N total adicionadas ao solo com o Agrotain Plus nas doses de 7 e 14 kg ha⁻¹ foram de 3,14 e 6,76 mg kg⁻¹ de solo e 6,28 e 13,52 mg kg⁻¹ de solo, respectivamente.

2.2.3 Inibidor de nitrificação

O produto avaliado quanto a sua eficiência em inibir a nitrificação do N amoniacal dos dejetos líquidos de suínos foi Agrotain Plus, o qual é um composto químico na forma de pó concentrado, de cor azul e possui na sua formulação dois princípios ativos: o N-(n-butil) triamida tiofosfórica (NBPT), cuja concentração é de 6,5%, e a dicianodiamida (DCD) que representa 81% do produto. Os restantes 12,5% do produto são representados por corante e substâncias inertes. As funções dos componentes NBPT e DCD são as de inibir a ação da enzima urease e a nitrificação, respectivamente. O NBPT presente no Agrotain Plus deve apresentar pouca ou nenhuma eficácia quando misturado a dejetos que tenham sido armazenados em esterqueiras antes de serem aplicados no solo. Isso porque, a uréia é rapidamente hidrolisada pela urease, sendo convertida nas formas iônicas de NH₄⁺, hidroxila (OH⁻) e carbonato (CO₃²⁻) (ZAMAN et al., 2008). Em função da expectativa de que o NBPT seja inócuo sobre a inibição da urease, já que os dejetos permaneceram em esterqueira antes do início do experimento, o Agrotain Plus será considerado no presente trabalho apenas em relação à molécula de DCD, como inibidor de nitrificação do N amoniacal dos dejetos.

A dicianodiamida (DCD), também denominada de cianoguanidina, é uma amida orgânica cuja composição química é $C_2N_4H_4$. DCD constitui a forma dimérica da cianamida, possui solubilidade relativamente elevada em água (23 g L^{-1} a 13°C), contém pelo menos 65% de N, não é higroscópica e nem volátil, sendo biodegradada no solo até CO_2 , NH_3 e H_2O (FRYE, 2005; MOIR et al., 2007; SINGH, 2008b). Conforme revisão realizada por Subbarao et al. (2006), a descoberta do efeito inibitório da nitrificação pela dicianodiamida ocorreu por volta de 1920.

2.2.4 Tratamentos

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 repetições dos seguintes tratamentos:

T1 - solo (testemunha) (S)

T2 - solo + dejetos líquidos de suínos (DLS)

T3 - solo + DLS + $3,5 \text{ kg ha}^{-1}$ Agrotain Plus (AP)

T4 - solo + DLS + $7,0 \text{ kg ha}^{-1}$ AP

T5 - solo + DLS + $14,0 \text{ kg ha}^{-1}$ AP

2.2.5 Incubação

A instalação do experimento ocorreu dia 19 de agosto de 2009. Os tratamentos foram aplicados ao solo em recipientes de acrílico, com 5,0 cm de altura e 5,0 cm de diâmetro, com capacidade de 110 mL. Cada recipiente de acrílico foi acondicionado em um frasco de vidro com capacidade de 1L para análise do CO_2 com três repetições para cada tratamento. Já para avaliação do N mineral, os recipientes de acrílico foram acondicionados em potes de vidro com capacidade de 2L, com quatro repetições por tratamento. Para evitar a deficiência de O_2 , o que limitaria a decomposição aeróbica dos materiais orgânicos, os frascos permaneceram abertos durante 15 minutos para aeração dos tratamentos. Essa operação era realizada em cada avaliação do CO_2 liberado.

A quantidade de solo colocada em cada recipiente de acrílico foi de 139,9 g com 14,3% de umidade, o que equivaleu a uma quantidade de 122,4 g de solo seco. Apenas no tratamento 1 (T1) foram aplicados 6 ml de água destilada no solo, e homogeneizados, a fim de manter a umidade desse solo próximo à capacidade de

campo. Nos tratamentos com adição de dejetos (T2) e com dejetos + Agrotain Plus (T3, T4 e T5), o umedecimento do solo ocorreu através da fração líquida dos mesmos, com aplicação de 6 ml de dejetos.

O produto Agrotain Plus foi avaliado nas doses de $3,5 \text{ kg ha}^{-1}$ (2,83 kg de DCD ha^{-1}), $7,0 \text{ kg ha}^{-1}$ (5,66 kg de DCD ha^{-1}), e 14 kg ha^{-1} (11,32 kg de DCD ha^{-1}) e os dejetos líquidos foram aplicados em dose equivalente a $29,4 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$. Para adição do Agrotain Plus no solo dos tratamentos T3, T4 e T5, o produto, em quantidades de 119, 238 e 476 mg, respectivamente, foi inicialmente dissolvido em 1 L de dejetos. Após a dissolução, adicionou-se ao solo correspondente a cada tratamento (133,9 g de solo úmido = 122,4 g de solo seco) 6 mL da mistura dejetos + Agrotain Plus, com auxílio de pipeta volumétrica. Essa adição correspondeu a 5,83, 11,66 e 23,33 mg de Agrotain Plus kg^{-1} de solo seco e 4,72, 9,45 e 18,90 mg de DCD kg^{-1} de solo seco. Em seguida, a mistura foi uniformemente incorporada ao solo com auxílio de espátula. Após a homogeneização, o solo foi adicionado nos recipientes de acrílico em duas etapas. Na primeira, foram adicionados 69,95 g de solo, compactando-o até a altura de 2,5 cm no frasco de acrílico. Na segunda, adicionou-se o restante do solo (69,95 g), compactando-o até a altura de 5 cm. Desta forma, o solo do frasco atingiu uma densidade de $1,2 \text{ g cm}^{-3}$.

Todas as unidades experimentais foram mantidas em uma incubadora a 25°C , na ausência de luminosidade por um período de 72 dias. A umidade do solo foi mantida próxima à capacidade de campo pela pesagem das amostras e, quando necessário, foi adicionada água destilada com auxílio de uma pipeta na superfície de cada frasco de acrílico.

2.2.5.2 Emissão de C-CO₂

O C-CO₂ liberado em cada tratamento foi captado em 10 mL de uma solução de NaOH 1 mol L^{-1} colocada em um frasco de vidro de 37 mL, suspenso na parte superior de cada frasco (Figura 1.1). Além dos 5 tratamentos avaliados também foram incubados três frascos contendo apenas a solução de NaOH (prova em branco), para capturar o CO₂ presente na atmosfera interna dos frascos de todos os tratamentos. O excesso de NaOH em cada intervalo de coleta foi titulado com uma solução de HCl 1 mol L^{-1} , após precipitação do carbonato com uma solução de BaCl₂

1 mol L⁻¹ (STOTZKY, 1965). A medida da evolução do C-CO₂ foi realizada 1, 3, 6, 12, 20, 29, 37, 50, e 72 dias após o início da incubação.

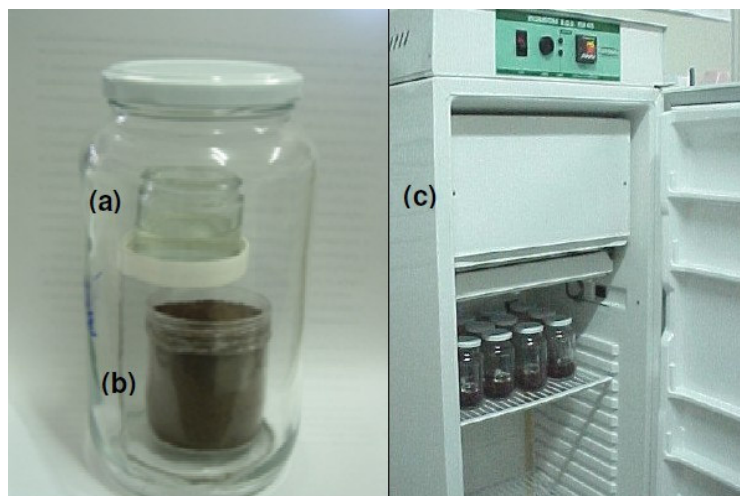


Figura 1.1 – Dispositivo utilizado para avaliar a evolução do CO₂, com identificação do frasco de vidro contendo a solução de NaOH para captação de CO₂ (a), do frasco de acrílico contendo cada tratamento (b) e dos frascos com os tratamentos, acondicionados na incubadora (c).

2.2.5.3 N mineral do solo

O dispositivo utilizado para avaliar o efeito dos tratamentos sobre o N mineral do solo é ilustrado na figura 1.2. Os teores de N mineral do solo (N-NH₄⁺ e N-NO₂⁻ + N-NO₃⁻) foram determinados 3 horas após a aplicação dos tratamentos (tempo 0) e aos 3, 6, 12, 20, 29, 37, 50 e 72 dias após o início da incubação. O N mineral foi extraído de 20 g do solo incubado. A extração foi realizada com 80 mL de KCl 1 mol L⁻¹ e agitação por 30 minutos. Após a agitação, o material ficou em repouso por 30 minutos, sendo então retirada uma alíquota de 20 mL do sobrenadante, na qual se acrescentou 0,2 g de MgO para a determinação do N amoniacal (NH₄⁺ + NH₃) em destilador de arraste de vapores do tipo semimicro Kjeldhal. Após o resfriamento da amostra, adicionou-se 0,2 g de Liga de Devarda, para nova destilação e determinação do N nítrico (NO₂⁻ + NO₃⁻). Embora essas duas formas de N mineral tenham sido determinadas conjuntamente, no presente trabalho os resultados serão apresentados e discutidos considerando-se que todo o N nítrico se encontrava no solo na forma de NO₃⁻ já que o NO₂⁻ é rapidamente oxidado (SINGH et al., 2008a) e, por isso, os teores são, normalmente, baixos.



Figura 1.2 – Frascos de vidro contendo no seu interior três frascos de acrílico (a), com as repetições dos tratamentos e um frasco menor (b) com água para repor as perdas por evaporação.

2.2.5.4 Cálculo da mineralização aparente do C e do N

O cálculo da mineralização aparente do C dos dejetos de suínos foi realizado com base na seguinte equação:

$$C_{map} = \left(\frac{CO_{2ds} - CO_{2s}}{Cad} \right) \times 100 \quad (1)$$

sendo, **C_{map}** a mineralização aparente do C dos dejetos (% do C adicionado); **CO_{2ds}** a quantidade de C-CO₂ emitida (mg kg⁻¹ de solo) nos tratamentos com dejetos de suínos, com e sem Agrotain Plus; **CO_{2s}** a quantidade de C-CO₂ emitida (mg kg⁻¹ de solo) no tratamento testemunha; e **C_{ad}** o C adicionado (mg kg⁻¹ de solo) com os dejetos.

O cálculo da mineralização foi realizado apenas nos dois tratamentos com a adição de dejetos de suínos.

A estimativa da mineralização do N orgânico aplicado ao solo com os dejetos foi determinada pela fórmula seguinte:

$$N_{\min} = (N_{ro2} - N_{ro1}) - (N_{s2} - N_{s1}) \quad (2)$$

sendo ***N_{min}*** a quantidade (mg de N kg⁻¹ solo) de N mineralizado; ***N_{ro1}*** e ***N_{ro2}*** as quantidades de N mineral do solo nos tratamentos com o uso de dejetos, com e sem Agrotain Plus no início e ao final de cada intervalo de avaliação, respectivamente; e ***N_{s1}*** e ***N_{s2}*** as quantidades de N mineral do solo no tratamento testemunha no início e ao final de cada intervalo de avaliação, respectivamente.

2.2.5 Cálculo das taxas de nitrificação

As taxas de nitrificação foram obtidas ajustando-se equações lineares aos valores líquidos de nitrato no solo. Os valores líquidos de nitrato no solo foram obtidos descontando-se dos valores de nitrato no solo dos tratamentos com dejetos de suínos o valor de nitrato encontrado no tratamento testemunha. Em cada tratamento a taxa de nitrificação é representada pelo coeficiente angular da reta.

2.2.6 Análise estatística

O efeito dos tratamentos sobre as variáveis em estudo foi avaliado através da análise de variância e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5%.

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Dinâmica do N mineral total

O N mineral total será considerado no presente trabalho como a soma das quantidades de N amoniacal (N-NH₃ + N-NH₄⁺) e de nitrato (N-NO₃⁻), uma vez que as quantidades de nitrito (N-NO₂⁻) no solo são, normalmente, desprezíveis. Pelo fato da determinação do N amoniacal realizada não separar as formas de amônia (NH₃) e amônio (NH₄⁺), a apresentação e discussão dos resultados será feita considerando-se N amoniacal como sendo N-NH₄⁺.

Considerando o tratamento testemunha (S), sem a aplicação de dejetos, observa-se que a quantidade de N mineral aumentou de 9 mg de N kg⁻¹ de solo para

41 mg de N kg⁻¹ de solo durante os 72 dias de incubação (Figura 1.3). A mineralização líquida de N é frequentemente observada durante incubações de solo sem a adição de resíduos orgânicos (CARGNIN, 2007). Esse processo, denominado de mineralização basal (MARY; RECOUS, 1994), ocorre através da lenta mineralização microbiana dos compostos humificados presentes na matéria orgânica do solo (MOS).

Comparando as quantidades de N mineral do solo entre os tratamentos, observa-se que, com a adição dos dejetos, ela aumentou significativamente mantendo-se em valores mais elevados até o final da incubação. Considerando apenas os quatro tratamentos com a aplicação de dejetos observa-se que houve uma redução média nas quantidades de N mineral da primeira (tempo 0) para a segunda amostragem (3 dias) de 21 mg de N mineral kg⁻¹ de solo (20%). Após essa amostragem, as quantidades de N mineral aumentaram até o final do experimento, sem diferenças significativas entre o tratamento com uso exclusivo de dejetos (S + DLS) e os três tratamentos onde os dejetos foram misturados a doses de Agrotain Plus, os quais também não diferiram entre si.

2.3.2 Dinâmica do N nas formas de amônio (NH₄⁺) e nitrato (NO₃⁻)

No tratamento testemunha, os valores de N-NH₄⁺ foram próximos a zero durante todo o experimento (Figura 1.4a). O aumento gradual dos teores de N-NO₃⁻ no solo desse tratamento (Figura 1.4b) evidencia que o N amoniacal proveniente da mineralização da MOS (mineralização basal) foi rapidamente oxidado para NO₃⁻ pelas bactérias nitrificadoras.

Tomando por base a quantidade de N amoniacal adicionada com os dejetos (90,7 mg kg⁻¹ de solo) e a quantidade de N amoniacal presente originalmente no solo (1 mg kg⁻¹ de solo), observa-se na Figura 1.4a a adequada recuperação, no tempo zero, do N-NH₄⁺ aplicado com os dejetos de suínos. Ela variou de 99% (89,7 mg kg⁻¹ de solo) no tratamento com uso exclusivo de dejetos a 108% (99 mg kg⁻¹ de solo) na média dos tratamentos em que os dejetos foram aplicados juntamente com o Agrotain Plus.

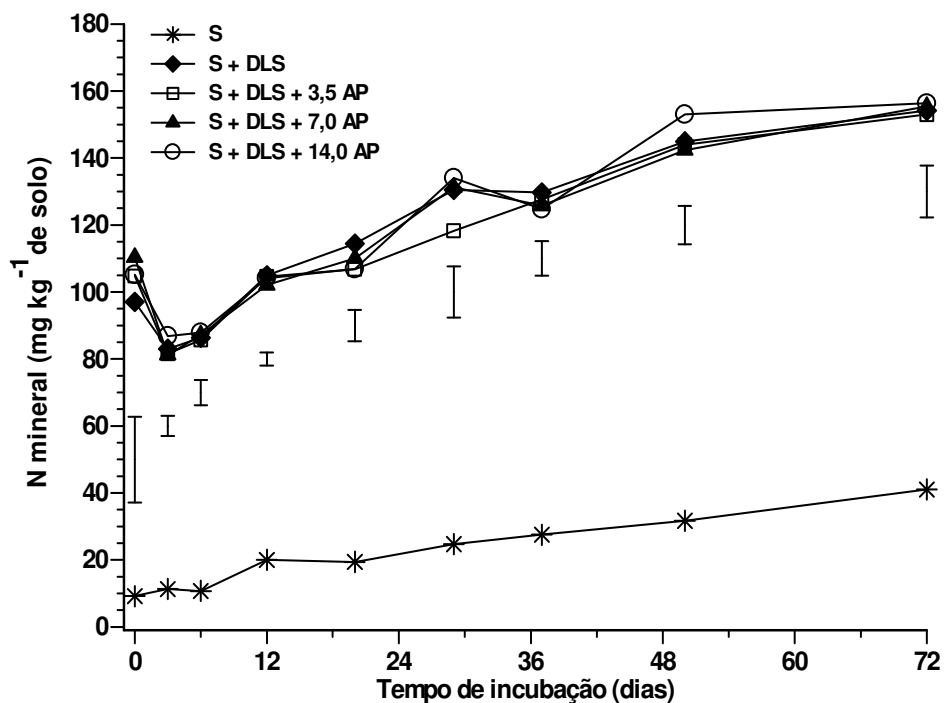


Figura 1.3 - Quantidades de N mineral no solo em cada data de avaliação, no tratamento testemunha (S) e nos tratamentos com adição de dejetos líquidos de suínos (DLS) sem e com Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 kg ha⁻¹.

Com exceção da primeira amostragem, onde não houve diferenças nas quantidades de N-NH₄⁺ entre os quatro tratamentos com dejetos, nas demais amostragens, o tratamento com a mistura da maior dose de Agrotain Plus (14,0 kg ha⁻¹) aos dejetos apresentou os maiores valores de N-NH₄⁺ até o final do experimento (Figura 1.4a). Comparando os tratamentos com adição de 3,5 e 7,0 kg de Agrotain Plus ha⁻¹ aos dejetos e o tratamento com uso exclusivo de dejetos (S + DLS), observa-se que as quantidades de N-NH₄⁺ no solo dos tratamentos com Agrotain Plus foram significativamente maiores desde os 12 dias até o final do experimento. Quando comparadas as duas doses de Agrotain Plus entre si, observa-se que a dose de 7 kg ha⁻¹ resultou em teores de N-NH₄⁺ significativamente maiores, no período entre 20 e 50 dias. Aos 20 dias, a quantidade de N-NH₄⁺ na dose de 7,0 kg ha⁻¹ (62 mg de N-NH₄⁺ kg⁻¹ de solo) foi 58% superior ao tratamento com 3,5 kg

ha⁻¹ (39 mg de N-NH₄⁺ kg⁻¹ de solo). Aos 50 dias essa diferença foi de 5,5 mg de N-NH₄⁺ kg⁻¹ de solo (47%).

O tratamento onde os dejetos foram aplicados ao solo sem a adição de Agrotain Plus (S + DLS) foi aquele em que as quantidades de N-NH₄⁺ diminuíram mais rapidamente no solo. Tomando a amostragem realizada aos 20 dias como exemplo, observa-se que nos tratamentos em que foram adicionadas as doses de 14,0, 7,0 e 3,5 kg de Agrotain Plus ha⁻¹ as quantidades de N-NH₄⁺ encontradas no solo superaram o tratamento com uso exclusivo de dejetos (S + DLS) em aproximadamente sete, cinco e três vezes, respectivamente. Observa-se ainda na Figura 1.4a que, quando não foi adicionado Agrotain Plus aos dejetos (S + DLS), a quantidade de N-NH₄⁺ do solo atingiu valores próximos a zero e equivalentes ao tratamento testemunha sem dejetos (S) já ao final do primeiro mês (Figura 1.4a). Esse conjunto de resultados indica que a adição do Agrotain Plus aos dejetos aumentou o tempo de permanência no solo do N mineral na forma de N-NH₄⁺ e que o efeito do produto aumentou com a dose aplicada.

A rápida taxa de nitrificação do N amoniacal observada no tratamento em que os dejetos foram aplicados ao solo sem o Agrotain Plus, está em acordo ao observado por Giacomini (2005) onde, em uma incubação a 25°C, o N amoniacal adicionado ao solo (pH =5,2) com dejetos líquidos de suínos (60 mg de N-NH₄⁺ kg⁻¹ de solo) foi totalmente nitrificado em 10 dias. Um aspecto interessante a destacar no presente trabalho é que as 90,7 mg de N-NH₄⁺ adicionadas ao solo com os dejetos foram completamente oxidadas para N-NO₃⁻ nos primeiros 29 dias (Figura 1.4a), mesmo com um valor relativamente baixo de pH do solo (5,0). De acordo com Sylvia et al. (1998) em valores baixos de pH do solo, a atividade das bactérias nitrificadoras é reduzida, o que parece não ter ocorrido nas condições do presente trabalho. A adaptação da população nativa de bactérias nitrificadoras em pH baixo e as faixas adequadas de temperatura e umidade empregadas na incubação podem explicar esse resultado.

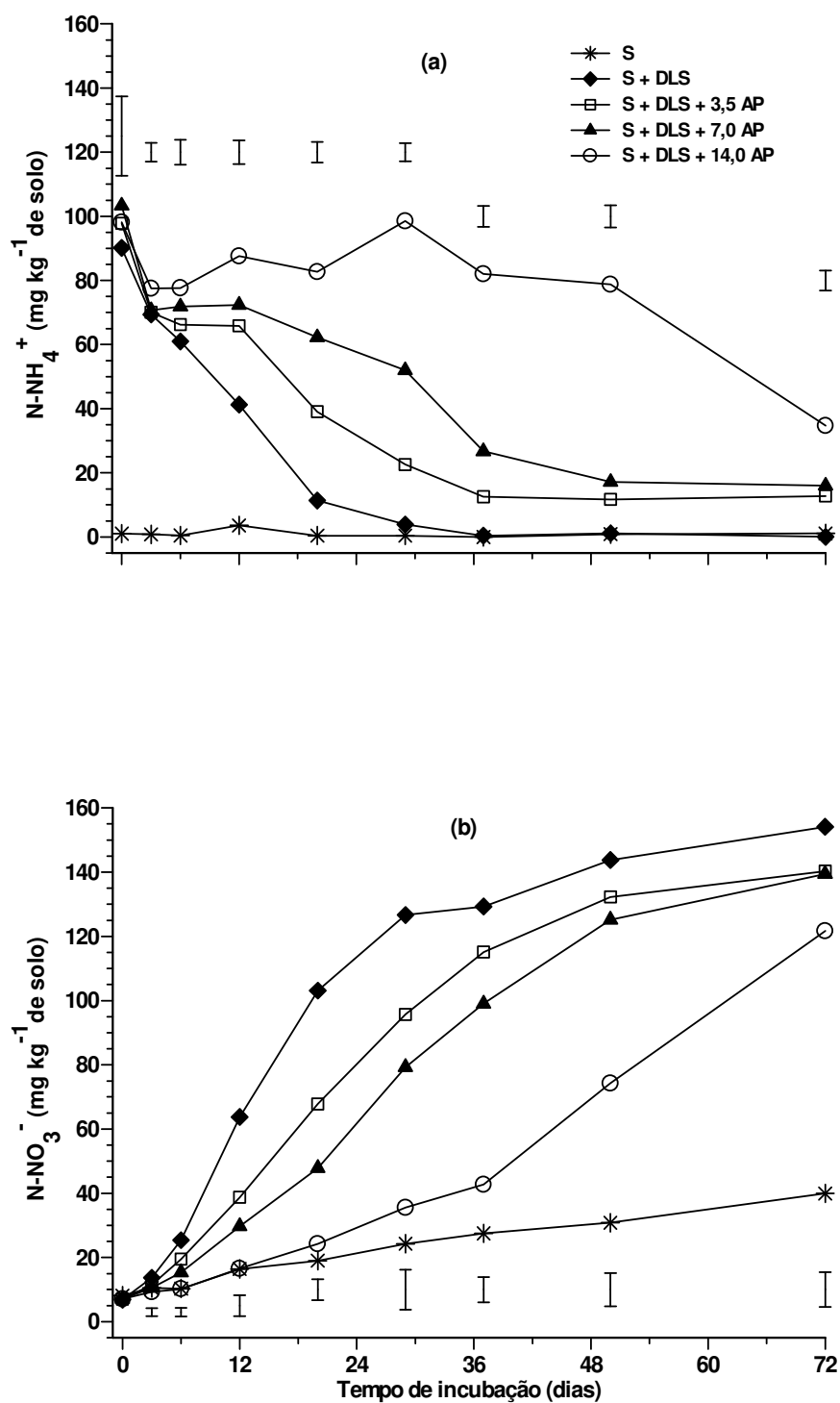


Figura 1.4 - Quantidades de N-NH_4^+ (a) e de N-NO_3^- (b) no solo em cada data de avaliação, no tratamento testemunha (S) e nos tratamentos com adição de dejetos líquidos de suínos (DLS) sem e com Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 kg ha^{-1} .

A redução das quantidades de N na forma de NH_4^+ no solo, aplicado tanto através de fontes minerais como, por exemplo, o sulfato de amônio $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ quanto orgânicas, depende da ocorrência de processos de natureza físico-química e biológica. A volatilização de amônia (NH_3), cuja ocorrência e intensidade, são controladas por características do solo, dos dejetos e pelas condições atmosféricas, constitui o processo físico-químico responsável pela redução das quantidades de N- NH_4^+ no solo. O pH elevado do solo, dos dejetos e da mistura solo/dejetos, as temperaturas altas e a exposição dos dejetos à ação dos ventos com velocidade elevada estão entre os principais fatores que favorecem a volatilização de NH_3 (SOMMER et al., 2003). Nas condições do presente trabalho, não houve ação do vento durante a incubação, o pH inicial do solo era relativamente baixo (5,0), a temperatura foi constante e não foi demasiadamente elevada (25°C) e os dejetos foram uniformemente incorporados ao solo. Por isso, pode-se inferir que a volatilização de NH_3 não deve ter afetado significativamente a redução observada nas quantidades de N- NH_4^+ no solo. Quanto aos processos biológicos, a imobilização microbiana de N também consome N- NH_4^+ do solo, especialmente em ambientes com adição recente de materiais orgânicos com elevada relação C/N (MARY et al., 1996). Esse não é o caso do presente trabalho onde não foi adicionado material orgânico com essas características e, por isso, a imobilização de N não deve ter sido a causa principal da diminuição acentuada dos teores de NH_4^+ nos tratamentos com dejetos, com exceção dos primeiros 3 dias do experimento.

O processo biológico dominante sobre a redução dos teores de N- NH_4^+ no solo dos tratamentos com aplicação de dejetos no presente trabalho foi a nitrificação, que consiste na oxidação microbiana do NH_4^+ para NO_3^- , através da ação de bactérias quimioautotróficas (SYLVIA et al., 1998). Isso pode ser comprovado comparando-se as Figuras 1.4a e 1.4b. Observa-se que, nos quatro tratamentos com dejetos, a diminuição nos teores de N- NH_4^+ (Figura 1.4a) foi acompanhada do aumento respectivo nas quantidades de N- NO_3^- (Figura 1.4b), evidenciando a ocorrência de nitrificação. Todavia, com a aplicação das mesmas quantidades de dejetos e, portanto, de N- NH_4^+ ($90,7 \text{ mg de N kg}^{-1}$ de solo) nos quatro tratamentos, observa-se na Figura 1.4b que a cinética de acúmulo do N- NO_3^- no solo foi distinta entre os tratamentos. Tomando como exemplo a amostragem realizada aos 29 dias, a quantidade de N- NO_3^- diminuiu de $126 \text{ mg de N kg}^{-1}$ de solo no tratamento com uso exclusivo de dejetos (S+ DLS) para 96, 79 e

apenas 35 mg de N kg⁻¹ de solo nos tratamentos em que os dejetos foram aplicados ao solo juntamente com as doses de 3,5, 7 e 14 kg de Agrotain Plus ha⁻¹, respectivamente. Essa redução de aproximadamente 4,3 vezes no acúmulo de N-NO₃⁻ no tratamento com a maior dose de Agrotain Plus, em relação ao tratamento com uso exclusivo de dejetos, evidencia o efeito inibitório da nitrificação, promovido pela presença de DCD na formulação do Agrotain Plus.

2.3.3 Efeito da dicianodiamida (DCD) na nitrificação do N amoniacal dos dejetos

O efeito inibitório do Agrotain Plus (DCD) sobre a nitrificação do N amoniacal dos dejetos pode ser melhor percebido na Figura 1.5, onde é apresentada a proporção entre N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻ no solo em cada amostragem (Figura 1.4). Observa-se na Figura 1.5b que após 29 dias praticamente todo o N amoniacal dos dejetos já havia sido nitrificado, já que a proporção do N mineral do solo que se encontrava na forma de N-NO₃⁻ era próxima a 100%. Nessa mesma data de avaliação, a proporção de N-NO₃⁻ era de 81% na menor dose de Agrotain Plus (3,5 kg ha⁻¹), 60% na dose intermediária (7 kg ha⁻¹) e 26% na maior dose do produto (14 kg ha⁻¹). Ao final do experimento, aos 72 dias, aproximadamente 22% do N mineral do tratamento em que os dejetos foram aplicados junto com 14 kg de Agrotain Plus ha⁻¹ ainda permaneciam no solo na forma de N-NH₄⁺.

Esse efeito inibitório da DCD sobre a nitrificação do N amoniacal de dejetos de suínos tem sido observado em outros trabalhos, embora essa linha de pesquisa seja ainda incipiente em nível internacional e, principalmente, no Brasil. No trabalho de Vallejo et al. (2005), realizado em Madri, sob condições de campo e com irrigação, os dejetos líquidos de suínos (187 kg de N-NH₄⁺ ha⁻¹) foram injetados no solo, juntamente com DCD (~ 15 kg ha⁻¹). A adição de DCD aos dejetos manteve teores elevados de N-NH₄⁺ na camada 0-10 cm do solo no período de 7 a 20 dias após a aplicação. Já a quantidade de N-NO₃⁻ dessa mesma camada do solo do tratamento com DCD foi inferior ao tratamento controle (sem dejetos e sem DCD) nos primeiros 30 dias, o que evidenciou o efeito da DCD na inibição da nitrificação. Em outro trabalho de campo e também com injeção de dejetos de suínos no solo, o efeito de DCD sobre a nitrificação foi avaliado durante dois anos por Carley (2007) no Canadá. O autor encontrou, nas primeiras duas semanas do primeiro ano, maiores quantidades de N-NH₄⁺ e menores quantidades de N-NO₃⁻ na camada de 0-

15 cm do tratamento onde DCD foi adicionado junto com os dejetos, relativamente ao tratamento apenas com dejetos, o que foi atribuído à inibição da nitrificação.

Aos valores de N-NO_3^- encontrados no solo, foram ajustadas equações de regressão linear, cujos coeficientes angulares representam a taxa de acúmulo de N-NO_3^- . Para calcular as quantidades de N-NO_3^- no solo dos quatro tratamentos com aplicação de dejetos, foi descontada, em cada amostragem, a quantidade de N-NO_3^- do tratamento testemunha (S), sem dejetos e sem Agrotain Plus. Portanto, os valores de N-NO_3^- mostrados na Figura 1.6 representam o acúmulo líquido de N-NO_3^- no solo, o qual foi produzido através da nitrificação do N amoniacal aplicado com os dejetos líquidos de suínos.

O período de tempo onde foi feito o ajuste das equações em cada um dos tratamentos com aplicação de dejetos foi escolhido a partir dos teores de N-NO_3^- da Figura 1.4b. Para isso, foram considerados os períodos de maior acúmulo de N-NO_3^- no solo, o que ocorreu nos primeiros 29 dias no tratamento com uso exclusivo de dejetos (S + DLS) e nos primeiros 50 dias nos tratamentos em que as doses de 3,5 e 7,0 kg de Agrotain Plus ha^{-1} foram aplicadas com os dejetos. No tratamento com a maior dose de Agrotain Plus foram considerados dois períodos para o ajuste de equações ao acúmulo de nitrato, sendo o primeiro dos 12 aos 37 dias e o segundo dos 37 aos 72 dias. No período inicial (0 a 12 dias) não ocorreu acúmulo de N-NO_3^- nesse tratamento, em relação à testemunha (S).

É importante destacar que, normalmente, a produção bruta de N-NO_3^- no solo supera a produção líquida, já que o N-NO_3^- produzido pode ser imobilizado pela população microbiana do solo e/ou reduzido para formas gasosas de N por bactérias desnitrificadoras. Todavia, em função das condições de incubação utilizadas (sem adição de materiais com relação C/N elevada e com teor de umidade relativo a 80% da capacidade de campo), pode-se considerar que o desaparecimento de N-NO_3^- por esses dois processos biológicos tenha sido mínima e, por isso, os valores apresentados na Figura 1.6 podem ser assumidos como representativos da nitrificação total ocorrida no sistema.

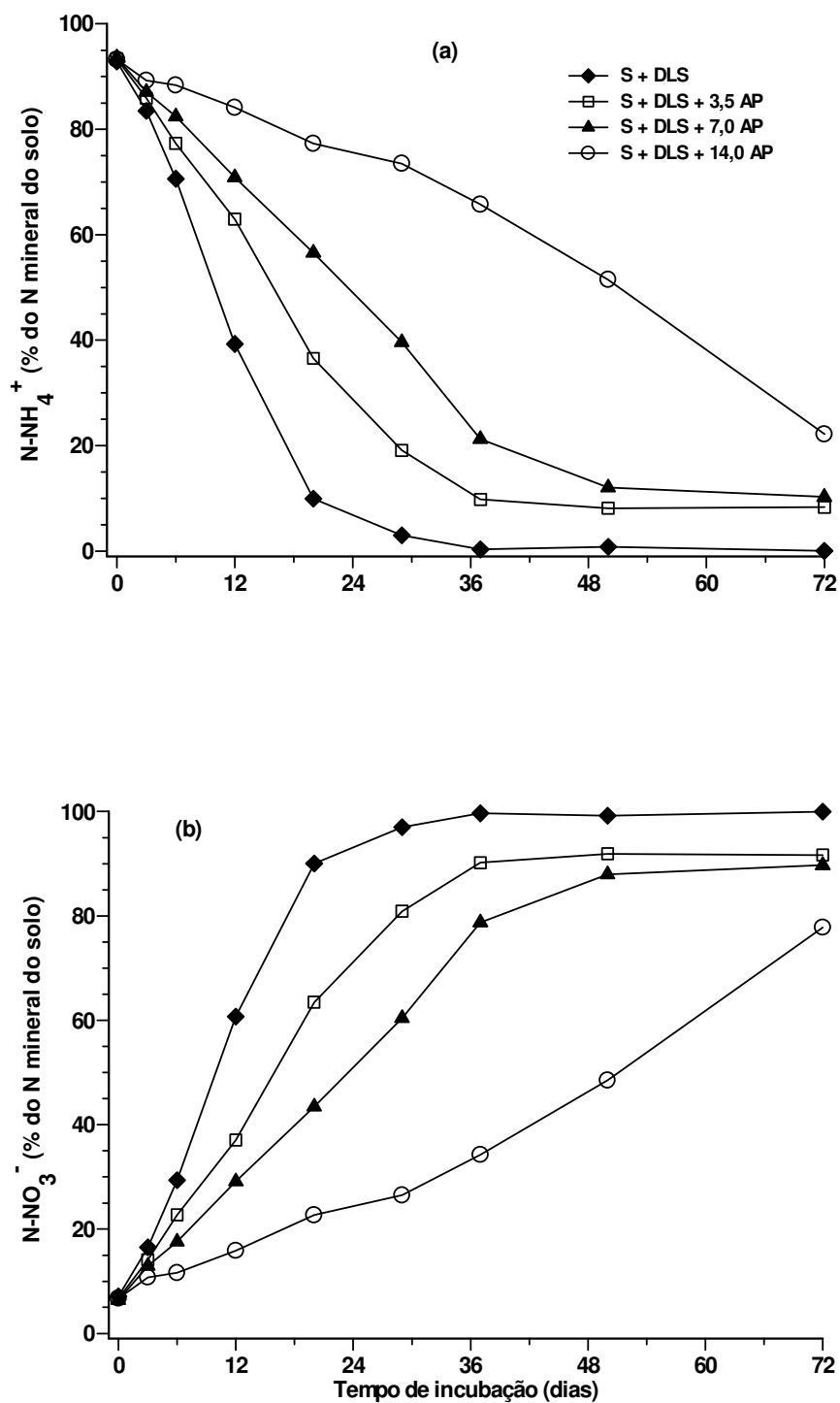


Figura 1.5 - Proporção de $N-NH_4^+$ (a) e de $N-NO_3^-$ (b) no solo em cada data de avaliação, nos tratamentos com adição de dejetos líquidos de suínos (DLS) sem e com Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 $kg\ ha^{-1}$.

Com a aplicação de N-NH_4^+ no solo, normalmente, é observada uma fase “lag” ou de adaptação das bactérias nitrificadoras, antes de iniciar a oxidação do substrato a taxas perceptíveis. Isso pode ocorrer com a aplicação de dejetos líquidos, onde a quantidade de NH_4^+ pode aumentar de 10 a 50 vezes (SOMMER et al., 2003). Essa fase de latência na cinética de nitrificação não foi observada no presente trabalho, mesmo com a aplicação de aproximadamente $91 \text{ mg de N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ de solo com os dejetos, o que correspondeu a um aumento de 90 vezes na quantidade de N-NH_4^+ , em relação ao solo sem dejetos (testemunha). Esse resultado difere do que sugerem Sommer et al. (2003) de que o N amoniacal da mistura solo/dejetos não será significativamente reduzida pela nitrificação durante os primeiros dias após a aplicação dos dejetos. Comparando os resultados das Figuras 1.5a e 1.5b percebe-se que, em apenas 6 dias, a proporção de N-NH_4^+ diminuiu em aproximadamente 20%, enquanto, no mesmo período, o N-NO_3^- aumentou praticamente na mesma proporção, evidenciando a rápida nitrificação do N amoniacal, aplicado ao solo com dos dejetos de suínos.

Observa-se na Figura 1.6 que o aumento no acúmulo de N-NO_3^- no solo ocorreu de forma linear e a taxas constantes nos tratamentos com uso de dejetos, sem Agrotain Plus (DLS) e com aplicação do produto, nas doses de 3,5 e 7,0 kg ha^{-1} . O que diferiu entre esses tratamentos foi a taxa de acúmulo líquido de N-NO_3^- , a qual diminuiu de $3,87 \text{ mg kg}^{-1}$ de solo dia^{-1} no tratamento em que os dejetos foram aplicados sem Agrotain Plus para 2,24 e 2,09 mg kg^{-1} de solo dia^{-1} nos tratamentos com 3,5 e 7,0 $\text{kg de Agrotain Plus ha}^{-1}$, respectivamente (Figura 1.6). Tais resultados mostram que o processo microbiano de nitrificação do N amoniacal dos dejetos foi retardado pelo uso do Agrotain Plus, sendo que a magnitude desse efeito foi diretamente relacionada à dose aplicada do produto. Esse efeito inibitório da nitrificação pelo Agrotain Plus é atribuído à ação da dicianodiamida (DCD) no bloqueio do sistema enzimático envolvido na etapa de oxidação de amônia para nitrito por *Nitrosomonas* spp, com destaque para *Nitrosomonas europaea* (SINGH et al., 2008a).

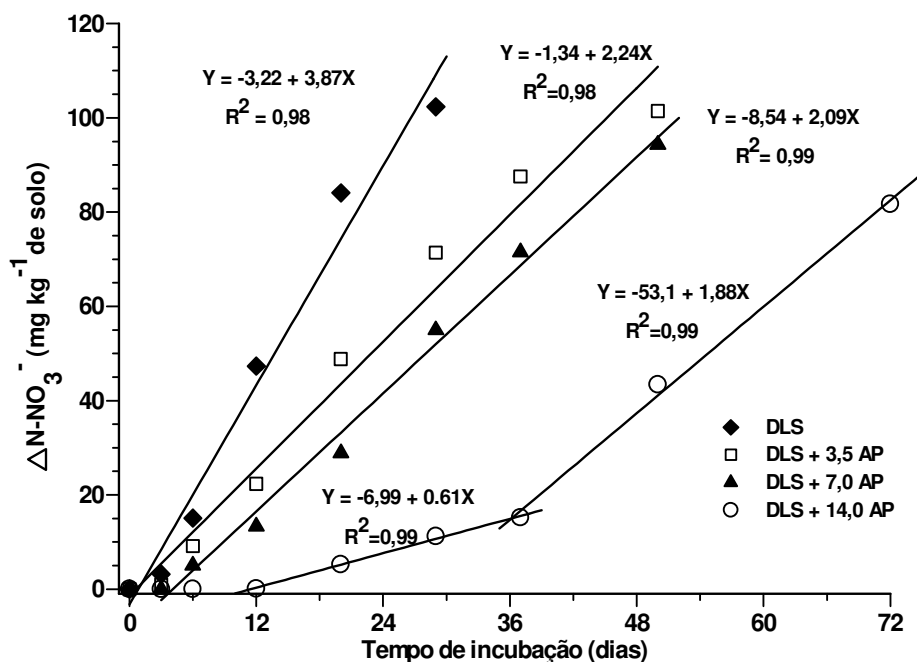


Figura 1.6 - Equações lineares ajustadas aos valores observados para a produção líquida de $N-NO_3^-$, nos primeiros 29 dias no solo do tratamento com uso exclusivo de dejetos (DLS), primeiros 50 dias nos tratamentos em que os dejetos receberam Agrotain Plus nas doses de 3,5 e 7,0 $kg\ ha^{-1}$ e durante todo o experimento (72 dias) no tratamento com a dose de 14 kg de Agrotain Plus ha^{-1} .

Ao discutirem estratégias para regular a nitrificação em sistemas agrícolas, Subbarao et al. (2006) mencionam que são normalmente requeridas doses de 10 a 50 mg de DCD kg^{-1} de solo para inibir a nitrificação. Citando Amberger (1989) os autores relatam que a duração, usualmente observada para esse efeito, é de 4 a 8 semanas, dependendo da temperatura, teor de umidade, matéria orgânica e pH do solo. Observa-se na Figura 1.5 que, mesmo na menor dose de Agrotain Plus empregada, a presença de DCD preservou maior quantidade de N na forma de $N-NH_4^+$ no solo do que o tratamento sem DCD. Cabe destacar que a quantidade de DCD aplicada com a menor dose de Agrotain Plus foi de 4,71 mg de DCD kg^{-1} de solo, 2,1 vezes menor do que o limite inferior mencionado por Subbarao et al. (2006) para a eficiência inibitória da nitrificação, através dessa amida orgânica (DCD). Um resultado cujas avaliações realizadas no presente trabalho não possibilitam explicá-lo convenientemente é porque a proporção de $N-NH_4^+$ no solo dos tratamentos com

3,5 e 7,0 kg ha⁻¹ de Agrotain Plus permaneceu acima de 10% a partir de 37 dias. Nessa data, praticamente todo o N mineral do solo no tratamento com dejetos e sem Agrotain Plus já se encontrava na forma nítrica (Figura 1.5).

O tratamento cuja cinética de acúmulo de N-NO₃⁻ diferiu dos demais é aquele em que o Agrotain Plus foi aplicado na dose de 14 kg ha⁻¹. Observa-se na Figura 1.6 que não foi detectada produção líquida de N-NO₃⁻ no solo desse tratamento durante os primeiros 12 dias. Após esse período, o acúmulo de N-NO₃⁻ ocorreu em duas etapas distintas, sendo a primeira dos 12 aos 37 dias com uma taxa menor (0,61 mg de N-NO₃⁻ kg de solo⁻¹ dia⁻¹) e a segunda a partir de 37 dias, a uma taxa mais elevada (1,88 mg de N-NO₃⁻ kg de solo⁻¹ dia⁻¹) e relativamente próxima ao tratamento com 7 kg de Agrotain Plus ha⁻¹. Esses resultados refletem o poder inibitório da DCD, o qual foi diminuindo com o passar do tempo, em razão da decomposição microbiana dessa molécula orgânica no solo. Segundo Subbarao et al. (2006) essa decomposição é mais rápida em solos com teores relativamente elevados de matéria orgânica já que, nessa condição, os microrganismos heterotróficos utilizam o N presente no DCD (~ 65%). Todavia, mesmo no período com maiores taxas de acúmulo de N-NO₃⁻, o valor encontrado no tratamento com a maior dose de Agrotain Plus (14 kg ha⁻¹ ou 11,3 kg de DCD ha⁻¹) ainda foi inferior ao tratamento somente com dejetos (S + DLS) em 1,99 mg de N-NO₃⁻ kg de solo⁻¹ dia⁻¹ (51,4%), o que revela o efeito prolongado da DCD na inibição da nitrificação nas condições experimentais utilizadas.

O efeito da dose de Agrotain Plus sobre as quantidades de N-NH₄⁺ e de N-NO₃⁻ do solo pode ser melhor visualizado na Figura 1.7 onde, aos valores observados para essas duas variáveis, foram ajustadas equações de regressão linear. Essa relação entre as doses de Agrotain Plus com as quantidades de N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻ encontradas no solo, foi feita na amostragem realizada aos 29 dias já que, nessa data, praticamente todo o N amoniacal dos dejetos já havia sido nitrificado (Figura 1.5). Observa-se na Figura 1.7 que, nos tratamentos com dejetos, o aumento de 1 kg ha⁻¹ nas doses de Agrotain Plus ou 0,81 kg ha⁻¹ de DCD (a concentração de DCD no produto é de 81%) proporcionou uma redução no teor de N-NO₃⁻ de 6,32 mg kg⁻¹ de solo (3,8 kg de N-NO₃⁻ ha⁻¹) e um aumento no teor de N-NH₄⁺ de 6,88 mg kg⁻¹ de solo (4,1 kg de N-NH₄⁺ ha⁻¹).

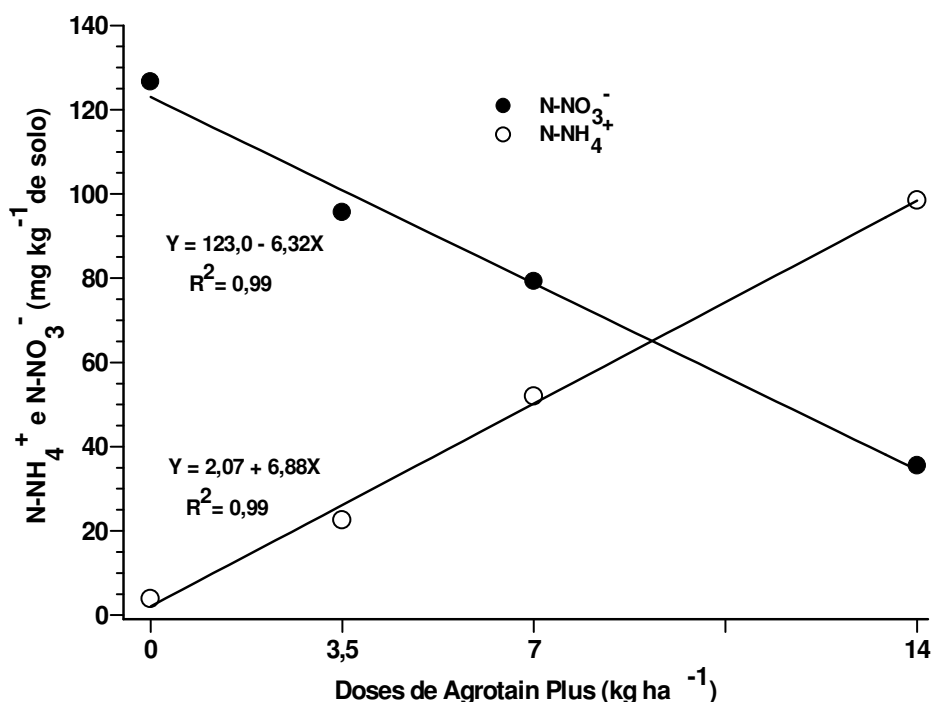


Figura 1.7 - Relação entre as doses de Agrotain Plus, aplicadas juntamente com os dejetos, e as quantidades de N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻ no solo na amostragem realizada aos 29 dias.

Embora não haja um consenso na literatura, a temperatura tem sido relacionada como um dos principais fatores responsáveis pela degradação da Dicianodiamida (DCD) no solo e pela perda gradativa da sua eficiência na inibição da nitrificação (KELLIHER et al., 2008). Esse aspecto foi avaliado numa incubação realizada por Di; Cameron (2004) ao adicionarem duas doses de DCD (7,5 e 15 kg ha⁻¹) a 1000 kg de N ha⁻¹ na forma de urina. Os autores constataram que o tempo para degradar 50 % do DCD (tempo de meia vida, $t_{1/2}$) diminuiu de 111 a 116 dias, quando a temperatura do solo foi mantida em 8°C, para apenas 18 a 25 dias, quando a temperatura foi de 20°C. Em outro trabalho para avaliar o efeito da temperatura sobre a cinética de degradação de DCD, Rajbanshi et al. (1992) utilizaram as doses de 10,1 mg de DCD kg⁻¹ de solo, 25,5 e 50,4 mg de DCD kg⁻¹, incubadas a 10, 20 e 30°C, e constataram que a taxa de mineralização do produto dobrou para cada 10°C de aumento na temperatura. No presente trabalho, a maior dose de DCD utilizada foi equivalente a 11,3 kg de DCD ha⁻¹ (18,9 mg kg⁻¹ de solo) e

a temperatura de foi mantida em 25°C durante a incubação. Comparando os resultados relativos à inibição da nitrificação no presente trabalho (Figura 1.5), especialmente na maior dose de DCD, aos resultados de Kelliher et al. (2008) e Rajbanshi et al. (1992), parece que a persistência da DCD no solo foi maior do que aquela referida por esses autores.

A dicianodiamida (DCD) é solúvel em água e, por isso, uma das maiores limitações desse inibidor de nitrificação é a facilidade com que ele é lixiviado no solo, saindo da zona explorada pelo sistema radicular das culturas, o que reduz a sua efetividade (SUBBARAO et al., 2006). Em incubações, conforme realizado no presente trabalho, esse problema é eliminado, já que não há saída de água do sistema. Portanto, embora as incubações sejam úteis à avaliação da eficiência de DCD, sob diferentes condições controladas, há necessidade de estender as avaliações para as condições de campo.

2.3.4 Mineralização do N dos dejetos

A mineralização do N dos dejetos durante a incubação foi obtida descontando-se dos valores de N mineral do solo encontrados no tratamento com uso exclusivo de dejetos (S + DLS) e dos tratamentos com dejetos + Agrotain Plus, os valores de N mineral do tratamento testemunha (S). Esse cálculo representa o acúmulo líquido de N no solo, resultante de processos brutos de mineralização e de imobilização de N. Portanto, quando o valor for positivo, ocorreu mineralização líquida de N e quando for negativo ocorreu imobilização líquida. Observa-se na Figura 1.8 que, nos primeiros 20 dias de todos os tratamentos com dejetos, isoladamente ou com Agrotain Plus, ocorreu imobilização líquida de N. Embora esse resultado possa parecer contraditório, em razão da baixa relação C/N dos dejetos de suínos (5,7, Tabela 1.1), a imobilização líquida de N tem sido observada em outros trabalhos (FLOWERS; ARNOLD, 1983; BURGER; VENTEREA, 2008; GIACOMINI et al., 2009).

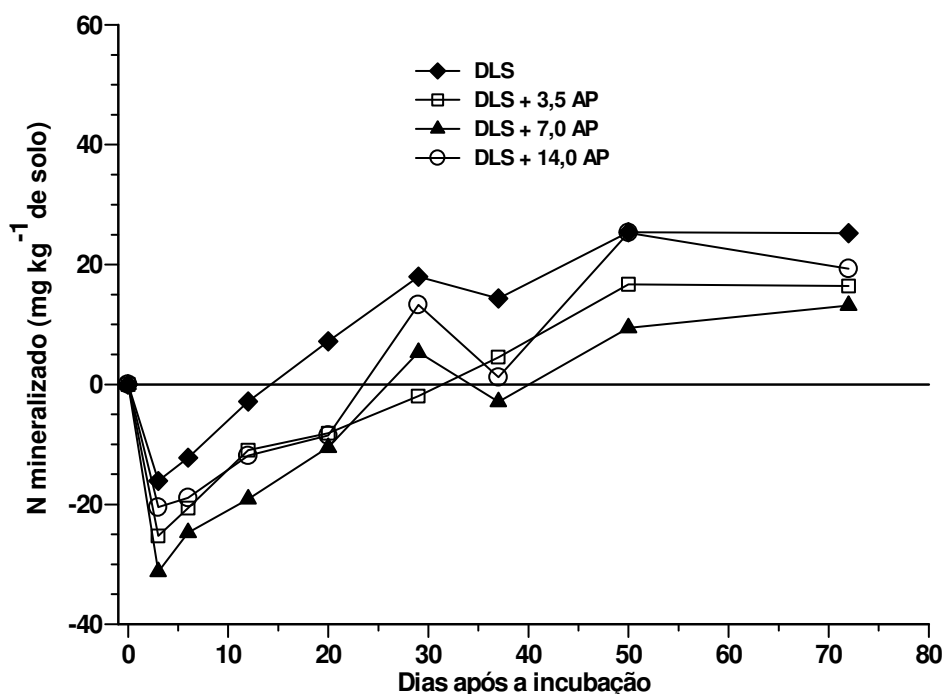


Figura 1.8 - Mineralização do N durante a incubação, nos tratamentos com uso de dejetos, sem e com Agrotain Plus, nas doses de 3,5, 7,0 e 14 kg ha⁻¹.

Na incubação realizada por Flowers; Arnold (1983), a adição de N-NH₄⁺ com dejetos de suínos foi equivalente a 100 mg de N kg⁻¹ de solo e, portanto, relativamente próxima da adição de N-NH₄⁺ do presente trabalho (90,7 mg kg⁻¹ de solo). Os autores verificaram que, a 5°C, ocorreu imobilização líquida de N até 30 dias após a adição dos dejetos e que esse período foi menor com o aumento da temperatura, embora a quantidade total de N imobilizado não tenha sido alterada pela variação na temperatura de incubação, atingindo aproximadamente 40% do N-NH₄⁺ dos dejetos. Na incubação conduzida por Burger; Venterea (2008), durante 180 dias a 25°C, ocorreu imobilização líquida de N, cujo valor máximo ocorreu aos 35 dias e foi equivalente a 14% do NH₄⁺ presente inicialmente nos dejetos líquidos de suínos. Os resultados apresentados na Figura 1.6 mostram que a imobilização líquida foi máxima aos 3 dias onde, na média dos quatro tratamentos, o valor

encontrado foi equivalente a aproximadamente 26% do N-NH_4^+ aplicado com os dejetos.

Essa imobilização líquida de N observada, principalmente nos períodos iniciais de decomposição dos dejetos no solo, é associada à presença nos dejetos de compostos orgânicos gerados durante ao armazenamento dos dejetos em condições anaeróbias, os quais que são facilmente metabolizados pelos microrganismos heterotróficos do solo. Entre esses compostos estão os ácidos graxos voláteis, com destaque para o ácido acético cuja concentração pode ser superior a 60% (COOPER; CORNFORTH, 1978). A variação na concentração desses compostos deve estar relacionada com o tempo e as condições de armazenamento dos dejetos e, por isso, varia também a magnitude dos processos microbianos de mineralização/imobilização de N após a adição dos dejetos no solo.

Os resultados mostrados na Figura 1.8 indicam que, a partir da amostragem realizada aos 29 dias, ocorreu, em praticamente todos os tratamentos, mineralização líquida de N. Ao final do experimento, aos 72 dias e, na média dos quatro tratamentos, o valor de N mineralizado foi de aproximadamente $18 \text{ mg de N kg}^{-1}$ de solo, o que corresponde a uma mineralização de 21 % do N orgânico adicionado ao solo com os dejetos (Tabela 1.1). A remineralização do N que foi assimilado pela biomassa microbiana durante o período de imobilização líquida também é variável na literatura. Enquanto no presente trabalho, o processo de remineralização ocorreu a partir dos 3 dias (Figura 1.8), na incubação realizada por Burger; Venterea (2008) esse processo não foi detectado durante os 180 dias da incubação. Diferenças nas características dos dejetos, do solo e nas condições experimentais podem explicar tais resultados contraditórios.

Um aspecto a salientar é que não foram avaliados, neste experimento, tratamentos com adição ao solo apenas do Agrotain Plus. Por isso, assumiu-se que o Agrotain Plus não afetou a mineralização do N dos dejetos e nem da matéria orgânica do solo (efeito "priming"). Essa hipótese é plausível uma vez que as quantidades acumuladas de N no solo ao final do experimento foram relativamente próximas entre o tratamento sem Agrotain Plus e os três tratamentos onde o produto foi aplicado juntamente com os dejetos. Assumindo que a concentração de DCD no Agrotain Plus seja de 81% e que a concentração de N da DCD seja de 66,5% (informações do fabricante), foram adicionados ao solo $3,1$, $6,2$ e $12,4 \text{ mg de N kg}^{-1}$ de solo, nas doses de $3,5$, 7 e $14 \text{ kg de Agrotain Plus ha}^{-1}$. Esses valores

correspondem a apenas 1,76, 3,5 e 5,28 % do N total aplicado no solo com os dejetos.

Em um trabalho de laboratório realizado por Chaves et al. (2006), em que folhas de couve-flor foram incorporadas ao solo, isoladamente ou na presença de duas doses de DCD (8,93 e 17,9 mg de DCD kg⁻¹ de solo), o teor de N-NO₃⁻ nos tratamentos com DCD superou o tratamento com adição apenas de folhas em 31% e 78%, respectivamente. Os autores suspeitaram que esse aumento ocorreu em função da mineralização do N da própria DCD ou e de um efeito “priming” induzido pela DCD. O efeito da DCD sobre outros processos biológicos envolvidos no ciclo interno do N, além da nitrificação, é um tema ainda muito pouco conhecido e que precisa ser investigado em estudos futuros.

2.3.5 Mineralização do C

A mineralização acumulada do C durante a incubação mostra a existência de três grupos de tratamentos (Figura 1.7). O primeiro, com menores valores de C-CO₂, é o tratamento testemunha, apenas com o solo. O segundo grupo, com valores intermediários, e sem diferenças significativas entre si, é constituído pelos tratamentos com uso exclusivo de dejetos (S + DLS) e com a adição de Agrotain Plus na menor dose (3 kg ha⁻¹). O terceiro grupo de tratamentos, com os maiores valores acumulados de C-CO₂ é aquele em que foram adicionadas as doses de 7 e 14 kg ha⁻¹ de Agrotain Plus juntamente com os dejetos.

Observa-se na Figura 1.9 que a cinética de mineralização do C diferiu entre o tratamento testemunha e os tratamentos com dejetos. No tratamento testemunha a mineralização ocorreu de forma lenta e relativamente constante durante o experimento. Esse comportamento, também observado na mineralização do N (Figura 1.3) e em outros trabalhos onde a mineralização do C do solo foi avaliada (DA LUZ, 2007; GIACOMINI et al., 2009), reflete a ação da população microbiana autóctone sobre a utilização dos constituintes da MOS como fonte de carbono e de N no seu metabolismo. Quanto aos tratamentos com dejetos, observa-se que ocorreu uma fase mais rápida na liberação de C-CO₂, nos primeiros 12 dias, seguida de uma fase mais lenta, o que deve estar relacionado à decomposição seqüencial de constituintes dos dejetos com biodegradabilidade decrescente.

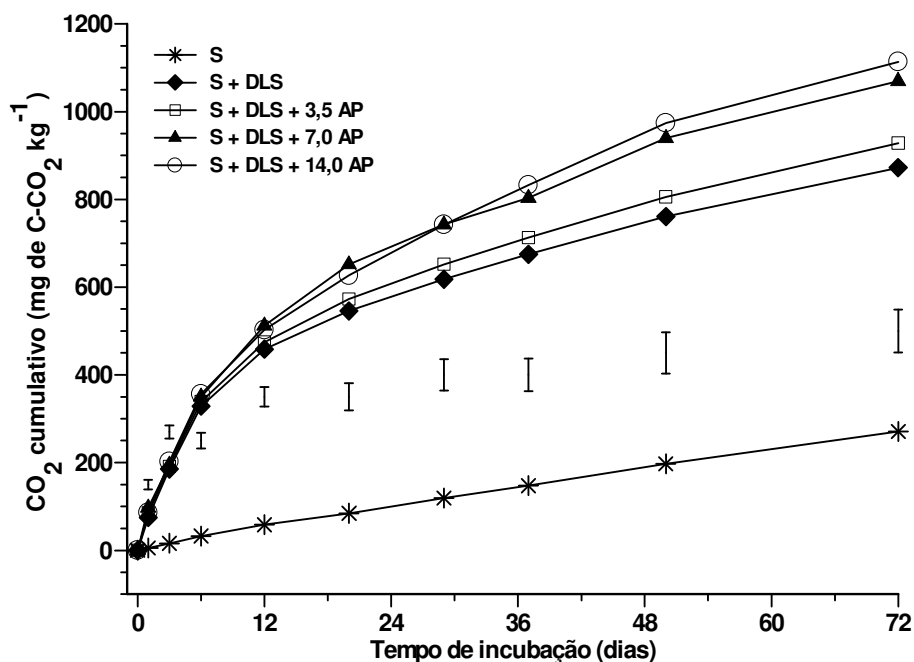


Figura 1.9 - Liberação cumulativa de CO₂ em mg de C-CO₂ kg⁻¹ de solo nos tratamentos sem dejetos (S), com uso exclusivo de dejetos (S + DLS) e com dejetos mais Agrotain Plus, nas doses de 3,5, 7, 0 e 14,0 kg ha⁻¹. As barras verticais representam a diferença mínima significativa (Tukey a 5%) entre os tratamentos.

A mineralização do C, expressa como uma porcentagem do C adicionado, mostra a existência de dois grupos de tratamentos, com diferenças significativas entre si (Figura 1.10). A maior mineralização do C, com valores médios de 88% do C adicionado ocorreu nos dois tratamentos em que os dejetos foram misturados às duas maiores doses de Agrotain Plus, o que evidencia o efeito do produto no aumento da mineralização do C dos dejetos. Esse resultado carece de confirmação em trabalhos futuros já que, segundo Amberger (1989), DCD tem efeito inibitório apenas sobre nitrificadores, sem afetar a atividade biológica geral do solo como, por exemplo, a atividade de heterotróficos.

Esse aumento na mineralização do C, observado neste trabalho, pode não estar relacionado diretamente com o uso da DCD mas ao efeito do produto na inibição da nitrificação. Numa incubação realizada por Azam et al. (2004) foi demonstrado que a redução na disponibilidade de CO₂ limita o processo de

nitrificação. No presente trabalho pode ser estabelecida uma relação inversa ao observado por esses autores, já que a ação inibitória da DCD pode ter limitado o crescimento da população de bactérias autotróficas. Com isso, a conversão de CO_2 em biomassa bacteriana pode ter sido menor nos tratamentos com as maiores doses de DCD (7 e 14 kg ha^{-1}), sobrando maior quantidade de CO_2 para captura na solução de NaOH do que no tratamento com a menor dose de DCD (93 kg ha^{-1}) e no tratamento com dejetos e sem DCD.

A mineralização do C dos dejetos encontrada aos 72 dias foi de 63%, o que está em acordo com a maioria dos trabalhos em que essa variável foi medida em condições controladas de laboratório (DA LUZ, 2007; GIACOMINI et al., 2009). Sob condições de campo, normalmente os valores são menores (AITA et al., 2006), já que as condições para a decomposição não são otimizadas.

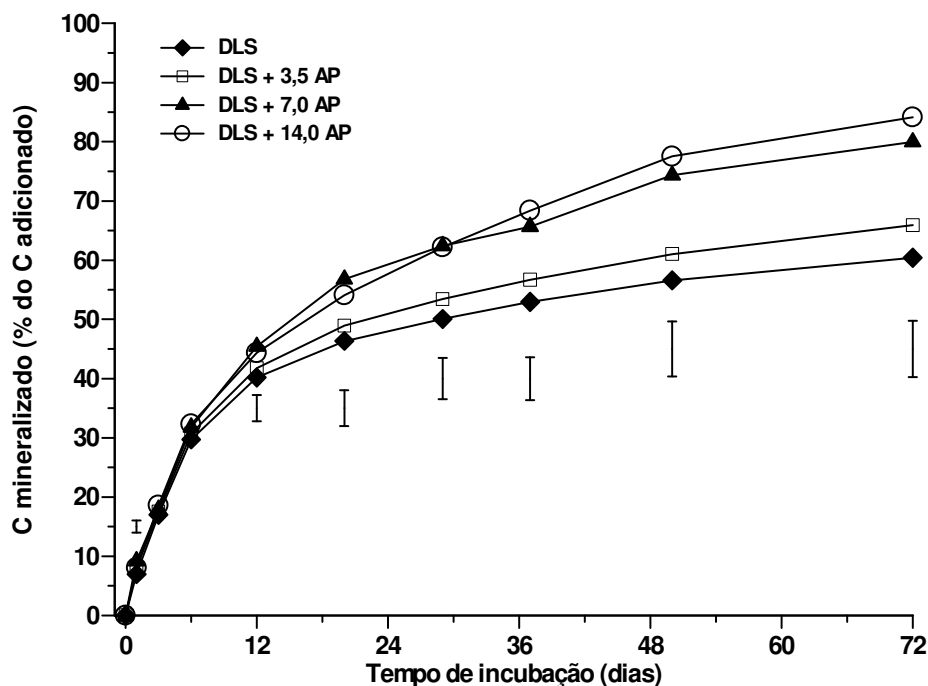


Figura 1.10 - Liberação cumulativa de CO_2 (% do C adicionado) nos tratamentos com dejetos de suínos (DLS) e com dejetos mais Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7, 0 e $14,0 \text{ kg ha}^{-1}$. As barras verticais representam a diferença mínima significativa (Tukey a 5%) entre os tratamentos.

2.4 Conclusões

1. A dicianodiamida (DCD), presente no Agrotain Plus, inibiu a nitrificação do N amoniacal dos dejetos líquidos de suínos.
2. O efeito inibitório da DCD sobre a nitrificação aumentou com a dose aplicada ao solo, juntamente com os dejetos.
3. Com o uso de Agrotain Plus, na dose de 14 kg ha^{-1} ($11,3 \text{ kg de DCD ha}^{-1}$) só houve produção perceptível de NO_3^- no solo 20 dias após a sua incorporação juntamente com os dejetos de suínos.

3 CAPÍTULO 2

Atividade microbiana e mineralização do nitrogênio no solo após adição de dicianodiamida (DCD)

3.1 Introdução

Os dejetos de animais, com destaque para aqueles gerados na suinocultura e manejados na forma líquida, se caracterizam por apresentarem teores elevados de nitrogênio (N) na forma amoniacal ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$), podendo ser superior a 75% do N total dos dejetos (GANGBAZO et al., 1995). Após a aplicação dos dejetos no solo, esse N estará susceptível a perdas de natureza físico-química e biológica, principalmente por volatilização de amônia (NH_3), redução de nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) a formas gasosas de N (desnitrificação) e lixiviação de NO_3^- . Uma das maneiras de preservar o N dos dejetos, melhorando a sua eficiência como fonte de N às culturas e reduzindo o impacto ambiental, consiste no uso de inibidores da nitrificação do N amoniacal (TAO et al., 2008). A eficiência dessa estratégia tem sido constatada tanto em experimentos de campo (DAMASCENO, 2010) como de laboratório, conforme demonstrado no capítulo I para um dos produtos mais utilizados para esse fim, que é a dicianodiamida (DCD ou Didin). Todavia, conforme enfatizado por Ali et al. (2009), a maior parte da literatura sobre o uso de DCD e de outros inibidores da nitrificação envolve a sua eficiência em manter, na forma de NH_4^+ , o N aplicado. Relativamente pouca atenção é dada sobre os efeitos desse inibidor da nitrificação sobre a atividade microbiana geral do solo.

Em uma das publicações mais antigas envolvendo a dicianodiamida, Amberger (1989) demonstrou que, após um período de inibição da nitrificação em *Nitrosomonas europaea*, a bactéria recuperou a capacidade de oxidar NH_4^+ quando transferida para um meio livre de DCD, evidenciando que o produto não tem efeito bactericida, mas apenas bacteriostático. Citando outros autores, Amberger (1989) menciona os microrganismos heterotróficos, que são os principais responsáveis pela “atividade biológica” do solo não são afetados pela DCD. Todavia, ao consultar a literatura disponível sobre esse assunto, constata-se que um número reduzido de estudos foi realizado com o objetivo específico de avaliar o efeito da DCD sobre a

biota do solo (ALI et al., 2009). Normalmente, o produto é misturado a fertilizantes orgânicos ou minerais e não há tratamentos com o uso exclusivo de DCD, o que dificulta o estudo do seu efeito isolado sobre as transformações de natureza microbiana no solo.

Em um trabalho conduzido no campo durante três anos, por Weiske et al. (2001), a aplicação de DCD reduziu a mineralização do C do solo. Na presença de fertilização nitrogenada (mistura de sulfato de amônio e nitrato) a emissão anual de CO₂ foi reduzida em 7% pela aplicação de DCD, enquanto na ausência de fertilizante a redução foi de 10%. Para os autores, essa tendência de redução na mineralização geral do C do solo pelo uso de DCD foi surpreendente e não foi confirmada por experimentos de laboratório. Por isso, eles evidenciaram a necessidade de conduzir novos experimentos a fim de obter informações mais conclusivas. Por outro lado, Ali et al. (2009), ao avaliarem o efeito de quatro doses de DCD (0, 7,5, 15 e 30 mg kg⁻¹), aplicadas juntamente com duas doses de N-uréia (60 e 120 mg kg⁻¹), constataram que no solo dos tratamentos com DCD houve maior atividade microbiana e que esse efeito estimulador do produto foi mais pronunciado no tratamento com a menor dose de N. Esse resultado foi atribuído pelos autores ao aumento na disponibilidade de NH₄⁺ no solo, como resultado da mineralização do N adicionado com o próprio inibidor. No solo, a dicianodiamida (C₂H₄N₄), que contém aproximadamente 67% de N, é susceptível à biodegradação, produzindo CO₂ e NH₄⁺ (AMBERGER, 1986).

No capítulo I desse trabalho, o produto Agrotain Plus, que contém 81% de DCD, foi utilizado em doses que variaram de 3,5 a 14 kg ha⁻¹. Todavia, o produto foi sempre aplicado juntamente com os dejetos líquidos de suínos, o que impossibilitou a avaliação isolada do produto sobre atributos do solo como a atividade microbiana e a mineralização do nitrogênio do próprio inibidor. Para avaliação desses aspectos, conduziu-se este experimento utilizando-se as mesmas doses de Agrotain plus do experimento I e sob as mesmas condições de incubação. Com o objetivo de confirmar as informações do experimento I, avaliou-se também o efeito da dose de 7 kg de Agrotain plus ha⁻¹ sobre a inibição da nitrificação em dejetos líquidos de suínos.

3.2 Material e Métodos

O trabalho iniciou com a coleta do solo em 07 de maio de 2010 e consistiu de duas incubações, conduzidas sob as mesmas condições durante 60 dias, no período de 17 de maio a 16 de julho de 2010. O local foi o Laboratório de Microbiologia do Solo e do Ambiente, do Departamento de Solos, na Universidade Federal de Santa Maria. Uma incubação foi conduzida para avaliar a atividade microbiana enquanto a outra serviu à avaliação da dinâmica do N mineral no solo.

3.2.1 Solo

O solo foi coletado na área experimental do Departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria, localizada na depressão central do estado do Rio Grande do Sul. Ele é classificado como Argissolo Vermelho Distrófico arênico (Paleudalf) (EMBRAPA, 2006), pertence à Unidade de Mapeamento São Pedro e possui as seguintes coordenadas geográficas: 29° 45' Latitude Sul e 53° 42' de Longitude Oeste e altitude de 95 m acima do mar. Na área em que o solo foi coletado vinha sendo cultivado milho em plantio direto desde 1998, sendo que a coleta foi realizada na camada 0-10 cm de uma parcela onde nunca havia sido utilizada adubação nitrogenada. Três amostras compostas do solo foram analisadas no Laboratório de Análises de Solos da UFSM e o resultado médio foi o seguinte: pH água (1:1) = 5,1; MO (%) = 1,6%; Argila (%) = 16%; P (mg/dm³) = 33,9; K (mg/dm³) = 40; H + Al³⁺ (cmol_c/dm³) = 4,4; Saturação de bases (T) % = 27; CTC efetiva (cmol_c dm⁻³) = 2,7.

Após a retirada dos resíduos culturais remanescentes presentes na superfície, o solo foi coletado e transportado ao laboratório para homogeneização e peneiramento em malha de 4 mm, permanecendo armazenado úmido em sacos plásticos, em temperatura ambiente, até o momento da incubação, dez dias após a coleta.

3.2.2 Características dos dejetos líquidos de suínos

Os dejetos líquidos de suínos em fase de terminação foram coletados no dia 17 de maio de 2010, em uma esterqueira anaeróbica de uma granja localizada no distrito de Arroio Grande (Santa Maria, RS).

Para caracterização dos dejetos, uma alíquota foi mantida em estufa a 65°C até peso constante, a fim de determinar a matéria seca, cujo valor encontrado foi de 5,75%. Em outra amostra foram determinados os teores de N total e N amoniacal, sem secagem prévia dos dejetos, segundo metodologia descrita por Tedesco et al. (1995). O teor de C da amostra seca em estufa a 65°C foi determinado por combustão seca (DUMAS) em um auto-analisador elementar CHNS (Flash EA 1112, THERMO ELECTRON). O pH foi determinado diretamente em peagâmetro, numa alíquota de aproximadamente 60 ml de dejetos e o valor foi de 7,4. Em g kg⁻¹ de dejetos (base úmida) os valores encontrados para os diferentes atributos dos dejetos foram 57,5 (matéria seca), 20,8 (C total), 4,05 (N total), 1,42 (N amoniacal) e 2,63 (N orgânico). Essas concentrações representaram adições ao solo, em mg kg⁻¹ de solo, de 3.288,4 (matéria seca), 1.189,5 (C total), 231,6 (N total), 81,2 (N amoniacal) e 150,4 (N orgânico).

3.2.3 Tratamentos

Nas duas incubações realizadas o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 repetições de cada um dos seguintes tratamentos:

T1 - solo (testemunha) (S)

T2 - solo + 3,5 kg de Agrotain Plus (AP) ha⁻¹ (S + 3,5 AP)

T3 - solo + 7,0 kg de AP ha⁻¹ (S + 7 AP)

T4 - solo + 14 kg de AP ha⁻¹ (S + 14 AP)

T5 - solo + dejetos líquidos de suínos (DLS) (S + DLS)

T6 - solo + DLS + 7,0 kg de AP ha⁻¹ (S + DLS + 7 AP)

3.2.4 Incubação

A instalação do experimento ocorreu em 17 de maio de 2010. Os tratamentos foram aplicados ao solo em recipientes de acrílico, com 5,0 cm de altura e 5,0 cm de

diâmetro, com capacidade de 110 mL. Cada recipiente de acrílico foi acondicionado em um frasco de vidro com capacidade de 1L para análise do CO₂ (Figura 1.1). Para a avaliação do N mineral, os recipientes de acrílico foram acondicionados em potes de vidro com capacidade de 2L, com quatro repetições por tratamento (Figura 1.2). Para evitar a deficiência de O₂, o que limitaria a decomposição aeróbica dos materiais orgânicos, os frascos permaneciam abertos durante 15 minutos para aeração dos tratamentos. Essa operação era realizada em cada avaliação do CO₂ liberado.

A quantidade de solo colocada em cada recipiente de acrílico foi de 139,33 g com 14,3% de umidade, o que equivaleu a uma quantidade de 122,4 g de solo seco. Apenas no tratamento 1 (T1) foram aplicados 7 ml de água destilada no solo, e homogeneizados, a fim de manter a umidade desse solo próximo à capacidade de campo. Nos tratamentos com adição de Agrotain Plus (T2, T3, T4), de dejetos (T5) e dejetos + Agrotain Plus (T6), o umedecimento do solo ocorreu através da fração líquida dos mesmos, com aplicação de 7 ml de dejetos ou de Agrotain Plus diluído em água.

O solo de cada tratamento foi adicionado nos recipientes de acrílico em duas etapas. Na primeira, foram adicionados 69,66 g de solo, compactando-o até a altura de 2,5 cm no frasco de acrílico. Na segunda, adicionou-se o restante do solo (69,67 g), compactando-o até a altura de 5 cm. Desta forma, o solo do frasco atingiu uma densidade de 1,2 g cm⁻³. Nos tratamentos que receberam adição de dejetos suíno (T5 e T6), a quantidade aplicada correspondeu a 34 m³ ha⁻¹.

Os tratamentos foram acondicionados em uma incubadora a 25°C, na ausência de luminosidade por um período de 60 dias. A umidade do solo foi mantida próxima à capacidade de campo pela pesagem das amostras e quando necessário, foi adicionada água destilada com auxílio de pipeta volumétrica na superfície de cada frasco de acrílico, tanto nas unidades experimentais utilizadas para análise do N mineral, quanto nas usadas para avaliação do CO₂. Além destes tratamentos, na incubação para avaliação do CO₂, foram incubados mais quatro frascos contendo apenas a solução de NaOH (prova em branco), para capturar o CO₂ presente na atmosfera interna dos frascos de todos os tratamentos.

3.2.5 Avaliações

3.2.5.1 Emissão de C-CO₂

O C-CO₂ liberado em cada tratamento foi captado em 10 mL de uma solução de NaOH 1 mol L⁻¹ colocada em um frasco de vidro de 37 mL, suspenso por haste de metal, na parte superior de cada frasco (Figura 1.1). Ao final de cada intervalo de incubação, o excesso de NaOH foi titulado com uma solução de HCl 1 mol L⁻¹, após precipitação do carbonato com uma solução de BaCl₂ 1 mol L⁻¹ (STOTZKY, 1965). A avaliação da evolução do C-CO₂ foi realizada após 1, 3, 6, 12, 20, 29, 37 e 50 dias de incubação.

A aeração das unidades experimentais foi efetuada por ocasião de cada avaliação realizada. Cada unidade permanecia aberta por 10 minutos, antes da troca da solução de NaOH nos frascos suspensos.

3.2.5.1.1 Cálculo da mineralização do C dos dejetos

A mineralização aparente do C dos dejetos, no tratamento com o uso exclusivo de dejetos (S + DLS) e no tratamento com aplicação de dejetos e Agrotain Plus (S + DLS + 7 AP), foi calculada com base nos valores emitidos de C-CO₂ e na fórmula seguinte:

$$C_{map} = \left(\frac{CO_{2ds} - CO_{2s}}{C_{ad}} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde: **C_{map}** é a mineralização aparente do C (% do C adicionado); **CO_{2e}** é a quantidade de CO₂ emitida (mg kg⁻¹) nos tratamentos S + DLS ou S + DLS + 7 AP; **CO_{2s}** é a quantidade de CO₂ emitida (mg kg⁻¹) no tratamento testemunha, sem adição de AP (S), ou no tratamento com adição de AP (S+ 7 AP) e **C_{ad}** representa o C adicionado ao solo (mg kg⁻¹) com os dejetos ou com a mistura dos dejetos com Agrotain Plus.

3.2.5.2 N mineral do solo

Os teores de N mineral do solo (N-NH_4^+ e $\text{N-NO}_2^- + \text{N-NO}_3^-$) foram determinados logo após a incubação (Tempo 0) e aos 15, 30 e 60 dias. Em cada data, o N mineral foi extraído com a adição de 80 mL de KCl 1 mol L^{-1} a 20 g de solo úmido e agitação durante 30 minutos. Após a agitação, o material ficou em repouso durante 30 minutos, sendo então retirada uma alíquota de 20 mL do sobrenadante, para a determinação do N amoniacal (N-NH_4^+) em destilador de arraste de vapores do tipo semimicro Kjeldhal, na presença de 0,2 g de MgO. Após o resfriamento da amostra, adicionou-se 0,2 g de Liga de Devarda, para nova destilação e determinação do N nítrico ($\text{N-NO}_2^- + \text{N-NO}_3^-$). A solução receptora do N mineral, constituída pela mistura de ácido bórico e indicadores, foi titulada com uma solução de H_2SO_4 0,005N. Considerando que os valores de nitrito (N-NO_2^-) geralmente são baixos no solo, os teores de N nítrico serão referenciados nesse trabalho apenas como N-NO_3^- .

3.2.5.2.1 Estimativa das taxas de nitrificação do N amoniacal

A nitrificação do N amoniacal dos dejetos em cada intervalo de avaliação foi calculada a partir do acúmulo de N-NO_3^- no solo, utilizando-se a seguinte fórmula:

$$TN = \left(\frac{Nn2 - Nn1}{t} \right) \quad (4)$$

Onde: **TN** é a taxa de nitrificação ($\text{mg de N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ de solo dia^{-1}); **Nn1** e **Nn2** representam as quantidades (em mg kg^{-1} de solo) de N-NO_3^- no início e no final de cada período de avaliação, respectivamente; e **t** representa o período de tempo (em dias) de cada intervalo avaliado.

2.2.5.4 Cálculo da mineralização do N dos dejetos

A estimativa da mineralização aparente do N orgânico aplicado ao solo nos dois tratamentos com os dejetos (S + DLS e S+ DLS + 7 AP) foi determinada pela fórmula seguinte:

$$N \text{ min} = (N_{ro2} - N_{ro1}) - (N_{s2} - N_{s1}) \quad (2)$$

sendo ***Nmin*** a quantidade (mg de N kg⁻¹ solo) de N mineralizado; ***Nm1*** e ***Nm2*** as quantidades de N mineral no solo (mg de N kg⁻¹ solo) dos tratamentos com o uso de dejetos (com e sem Agrotain Plus) no início e ao final de cada intervalo de avaliação, respectivamente; e ***Ns1*** e ***Ns2*** as quantidades de N mineral no solo (mg de N kg⁻¹ solo) dos tratamentos testemunha (S) e do tratamento com adição de 7 kg de Agrotain Plus ha⁻¹ (S + 7 AP), no início e ao final de cada intervalo de avaliação, respectivamente.

3.2.6 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise da variância e as médias de cada tratamento foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Efeito do Agrotain Plus sobre a mineralização do N do solo

Na figura 2.1 percebe-se que há dois grupos distintos de tratamentos, quanto aos teores de N mineral encontrados no solo. O primeiro é representado pelos quatro tratamentos em que não houve adição de dejetos de suínos, cujo valor médio de N mineral aos 60 dias foi de 27 mg kg⁻¹ de solo e não foram constatadas diferenças significativas entre os tratamentos ao longo da incubação. No segundo grupo, com valores finais médios de 145 mg de N mineral kg⁻¹ de solo aparecem os dois tratamentos com adição de dejetos. Essa diferença nos teores de N mineral se deve à adição ao solo dos dejetos, que continham na sua composição inicial 1,42 g de N amoniacal kg⁻¹ de dejetos. Comparando as quantidade de N mineral encontradas no solo no tempo 0 observa-se que, na média dos dois tratamentos com dejetos, ela foi de 90 mg kg⁻¹ de solo, enquanto que na média dos quatro tratamentos sem dejetos ela foi de 5 mg kg⁻¹ de solo. Essa diferença, de 84,5 mg kg⁻¹ de solo, supera em aproximadamente 13% a quantidade de N mineral adicionada ao solo com os dejetos, que foi de 74,8 mg kg⁻¹ de solo. Essa recuperação do N

mineral dos dejetos, superior à quantidade aplicada, pode resultar da dificuldade em obter uma perfeita homogeneização dos dejetos ao solo, quando da sua aplicação.

Considerando os quatro tratamentos sem a aplicação de dejetos, observa-se que a quantidade de N mineral aumentou gradualmente durante os 60 dias, sendo que, nas quatro datas avaliadas, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Na média dos tratamentos, a quantidade de N mineral aumentou de 5 para 27 mg de N kg⁻¹ de solo. Essa produção líquida de 22 mg de N kg⁻¹ de solo resultou da mineralização de N, ocorrida durante a decomposição da matéria orgânica do solo (MOS) pela população microbiana heterotrófica. O fato da adição de Agrotain Plus, nas três doses empregadas, não ter provocado diferenças na produção de N mineral, em relação ao tratamento testemunha, sem Agrotain Plus, indica que o NBPT e a DCD, presentes nesse produto e, nas doses aplicadas, não afetaram a atividade dessa população microbiana, atuante na mineralização do N da MOS.

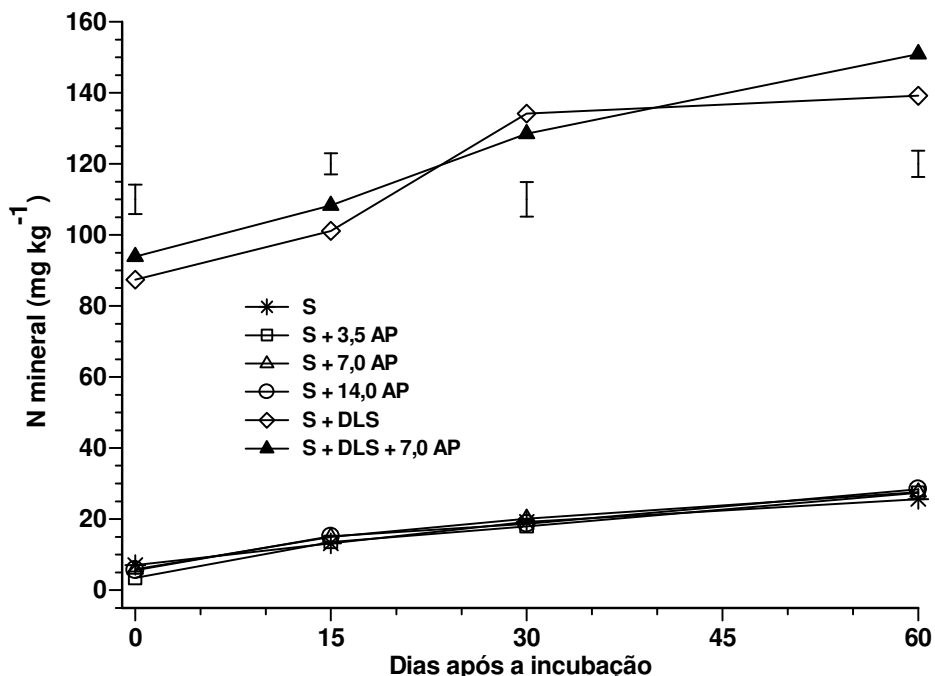


Figura 2.1 - Quantidades de N mineral no solo em cada data de avaliação, no tratamento testemunha (S) e nos tratamentos com Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 kg ha⁻¹, e com dejetos suínos (DLS). As barras verticais representam a diferença mínima significativa (Tukey a 5%) entre os tratamentos.

3.3.2 Efeito do Agrotain Plus sobre a mineralização do N dos dejetos

Comparando os dois tratamentos com aplicação de dejetos de suínos ao solo, observa-se na figura 2.1 que, nas amostragens realizadas aos 15 e aos 60 dias, as quantidades de N mineral do tratamento com aplicação de Agrotain Plus foram significativamente maiores do que no tratamento onde os dejetos foram adicionados sem Agrotain Plus. Isso poderia induzir à conclusão de que o produto favoreceu a mineralização do N dos dejetos e/ou que o N aplicado ao solo com o produto foi mineralizado. Todavia, para avaliar especificamente o efeito do Agrotain Plus sobre a mineralização do N orgânico dos dejetos é preciso comparar os resultados obtidos através da diferença entre as quantidades de N mineral do tratamento com uso exclusivo de dejetos (S + DLS) e do tratamento testemunha sem dejetos (S) aos resultados da diferença entre as quantidades de N mineral do tratamento em que o Agrotain Plus foi aplicado junto com os dejetos (S + DLS + 7,0 AP) e do tratamento com uso exclusivo de Agrotain Plus (S + 7,0 AP). Os resultados desses cálculos são mostrados na figura 2.2.

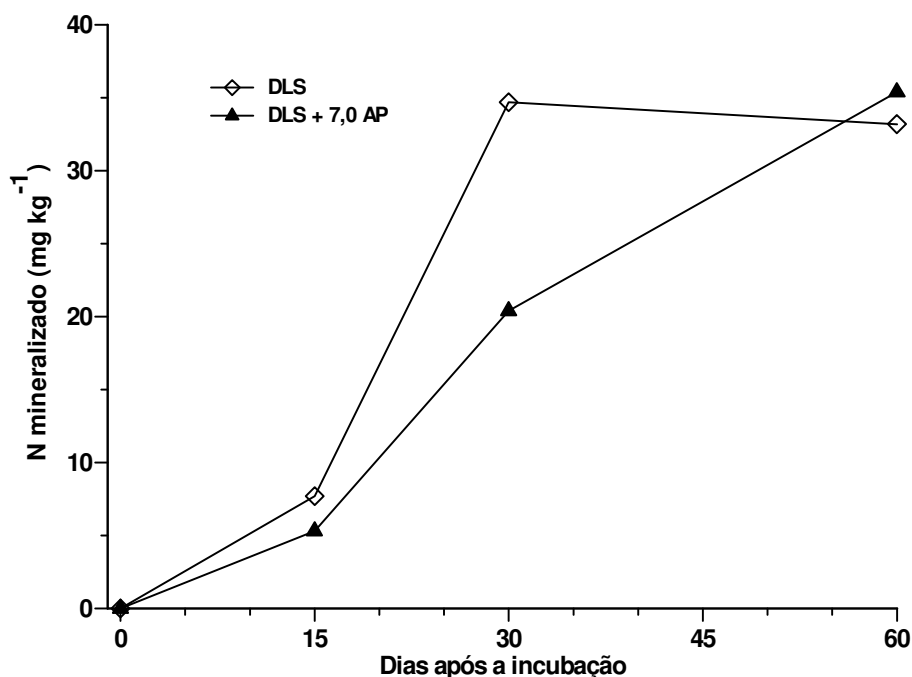


Figura 2.2 – Mineralização do N dos dejetos líquidos de suínos (DLS), quando utilizados isoladamente ou junto com Agrotain Plus (AP), na dose de 7 kg de ha⁻¹.

Com exceção da amostragem realizada aos 30 dias, onde a quantidade de N dos dejetos que foi mineralizado foi maior quando os mesmos foram aplicados isoladamente, em relação a sua aplicação junto com Agrotain Plus, nas demais amostragens os valores foram muito próximos e sempre crescentes, o que indica a ocorrência de mineralização líquida de N durante toda a incubação. Tais resultados diferem daqueles encontrados no capítulo I, onde ocorreu imobilização líquida de N durante os primeiros 12 dias de incubação no tratamento com uso exclusivo de dejetos e durante os primeiros 30 dias no tratamento em que os dejetos foram aplicados juntamente com a dose de 7 kg de Agrotain Plus ha⁻¹. Embora o solo tenha sido coletado na mesma área daquele que foi utilizado na incubação do capítulo I, os dejetos tenham sido coletados na mesma esterqueira e as condições experimentais tenham sido similares, as diferenças na composição bioquímica dos dejetos podem explicar tais diferenças nos resultados.

O valor médio para o N mineralizado em 60 dias nos tratamentos em que os dejetos foram aplicados isoladamente ou junto com Agrotain Plus foi de 34 mg kg⁻¹ de solo (Figura 2.2). Esse valor representa aproximadamente 24 % do N orgânico adicionado ao solo com os dejetos. No capítulo I, ao final da incubação, aos 72 dias, a mineralização média do N dos dejetos foi de 21 %.

3.3.3 Efeito do Agrotain Plus sobre a taxa de nitrificação do N amoniacal dos dejetos

O efeito do Agrotain Plus sobre a nitrificação pode ser visualizado na figura 2.3, onde o N amoniacal e o N nítrico são apresentados em mg kg⁻¹ de solo e também na figura 2.4, onde essas duas formas de N mineral são apresentadas, em cada amostragem, como uma proporção entre ambas.

Os teores de N amoniacal no solo dos quatro tratamentos sem aplicação de dejetos de suínos permaneceram próximos a zero durante todo o experimento (Figura 2.3a) enquanto que os teores de N nítrico desses mesmos tratamentos aumentaram gradualmente, passando de um valor inicial médio de 4 mg de N-NO₃⁻ mg⁻¹ de solo para 26 mg de N-NO₃⁻ mg⁻¹ de solo ao final do experimento. Esse aumento de 22 mg de N-NO₃⁻ mg⁻¹ de solo em 60 dias, sem que tenha ocorrido alteração do teor de N amoniacal, mostra que a medida em que o N da matéria orgânica do solo foi sendo mineralizado pela população microbiana heterotrófica, ele

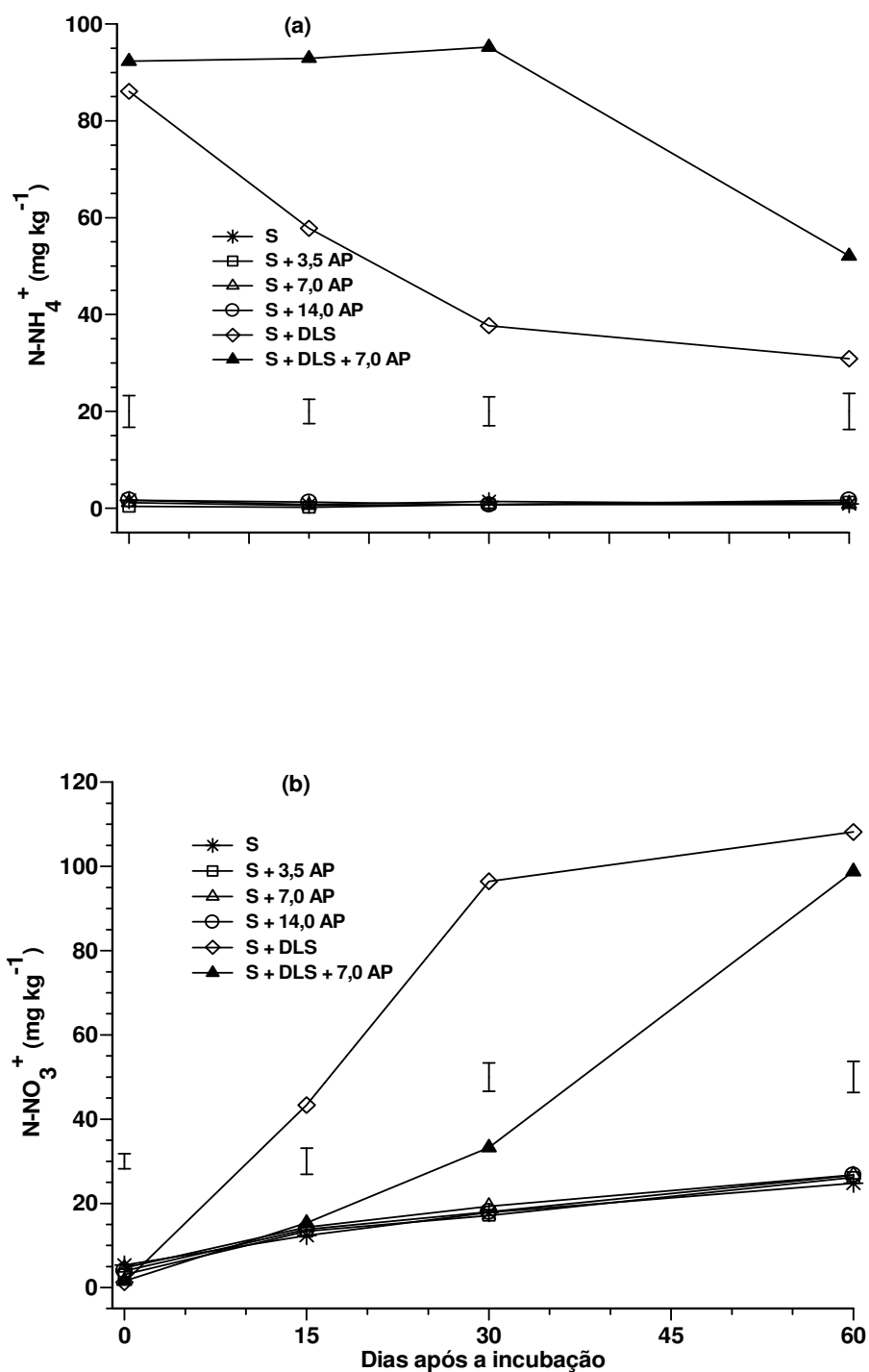


Figura 2.3 – Quantidades de N-NH₄⁺ (a) e N-NO₃⁻ (b) no solo em cada data de avaliação durante os 60 dias, no tratamento testemunha (S) e nos tratamentos com Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 kg ha⁻¹, e com dejetos suínos (DLS). As barras verticais representam a diferença mínima significativa (Tukey a 5%) entre os tratamentos.

foi prontamente nitrificado. Em razão da lenta mineralização (amoniificação) do N da MOS, não é possível detectar com precisão o efeito da dicianodiamida (DCD), presente no Agrotain Plus, sobre a inibição da nitrificação desse N.

O efeito inibitório da DCD sobre a nitrificação é claramente percebido nos tratamentos com aplicação de dejetos de suínos, onde a quantidade de N amoniacal adicionada ao solo foi elevada (81,2 mg de N-NH_4^+ kg^{-1} de solo). Na figura 2.3a observa-se que as quantidades de N amoniacal encontradas no solo logo após a aplicação dos dejetos variou de 86 mg de N-NH_4^+ kg^{-1} no tratamento com uso exclusivo de dejetos (S + DLS) a 92 mg de N-NH_4^+ kg^{-1} no tratamento com aplicação conjunta dos dejetos e do Agrotain Plus (S + DLS + 7 AP). Nos primeiros 30 dias, a quantidade de N amoniacal no solo do tratamento com o uso de AP praticamente não variou. Por outro lado, quando os dejetos foram aplicados sem AP, a quantidade de N amoniacal nesse período diminuiu de 86 para 38 mg de N-NH_4^+ kg^{-1} (Figura 2.3 a).

Comparando as proporções entre as duas formas de N mineral, percebe-se, na figura 2.4, que, aos 30 dias, aproximadamente 74% do N mineral ainda permaneciam na forma de N-NH_4^+ no solo do tratamento em que os dejetos e o Agrotain Plus foram aplicados juntamente (S + DLS + 7,0 AP). Já no tratamento com uso exclusivo de dejetos (S + DLS) a proporção de N na forma de N-NH_4^+ era de apenas 28% na mesma data. A manutenção do N mineral na forma de N-NH_4^+ no tratamento com aplicação de AP e essa redução na quantidade de N amoniacal, quando os dejetos foram aplicados sem AP (Figura 2.3a), evidenciam a eficiência da dicianodiamida (DCD) em inibir a nitrificação do N amoniacal aplicado ao solo com dejetos líquidos, conforme já demonstrado no capítulo I e em outros trabalhos realizados tanto com dejetos de suínos (CARLEY, 2007) como de bovinos (TAO et al., 2008).

Um resultado a destacar na figura 2.3 refere-se à variação nos teores de N mineral no solo do tratamento com aplicação de AP junto aos dejetos (S + DLS + 7 AP). Enquanto a quantidade de N-NH_4^+ não variou durante os primeiros 30 dias (Figura 2.3a), a quantidade de N-NO_3^- aumentou, em relação ao tratamento testemunha (S), entre 15 e 30 dias (Figura 2.3b). Esse aumento de aproximadamente 13 mg de N-NO_3^- kg^{-1} de solo nesse período, sem que tenha ocorrido alteração nos teores de N-NH_4^+ evidencia que a mineralização/amoniificação do N orgânico aplicado ao solo com os dejetos só foi significativa após 15 dias, e

que o N amoniacal produzido a partir daí foi logo oxidado para N-NO_3^- . Todavia, mesmo tendo ocorrido acúmulo de N-NO_3^- entre 15 e 30 dias no tratamento com aplicação de Agrotain plus, ele ocorreu a uma taxa de aproximadamente $1 \text{ mg de N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ de solo dia^{-1} , o que corresponde a uma taxa mais de três vezes inferior ao tratamento em que os dejetos foram aplicados ao solo sem Agrotain Plus (S + DLS), onde o acúmulo do N-NO_3^- foi de $3,5 \text{ mg de N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ de solo dia^{-1} . Considerando o período entre 30 e 60 dias, houve uma inversão desse comportamento. Se observa que, enquanto no tratamento sem Agrotain Plus o acúmulo de N-NO_3^- no solo ocorreu a uma taxa de $0,5 \text{ mg de N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ de solo dia^{-1} , no tratamento com Agrotain Plus esse acúmulo foi aproximadamente quatro vezes maior ($2,0 \text{ mg de N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ de solo dia^{-1}). Tais resultados confirmam a rápida taxa de nitrificação do N amoniacal dos dejetos de suínos e a inibição temporária desse processo microbiano pela dicionodiamida, conforme já constatado no capítulo I.

A rápida nitrificação do N amoniacal, proveniente do metabolismo dos microrganismos heterotróficos decompositores do N orgânico dos dejetos, é percebido mais claramente quando se comparam as taxas de redução do N amoniacal e de acúmulo de N-NO_3^- durante os primeiros 30 dias do tratamento em que os dejetos foram aplicados ao solo sem AP. Observa-se que tanto a diminuição das quantidades de N-NH_4^+ (Figura 2.3a) quanto o acúmulo de N-NO_3^- (Figura 2.3b) foram praticamente lineares. Todavia ambas ocorreram a taxas distintas. Enquanto a quantidade de N-NH_4^+ diminuiu em 48 mg kg^{-1} de solo em 30 dias ($1,6 \text{ mg de N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ de solo dia^{-1}), a quantidade de N-NO_3^- aumentou em 97 mg kg^{-1} de solo ($3,2 \text{ mg de N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ de solo dia^{-1}). Essa diferença de 49 mg kg^{-1} de solo no aumento de N-NO_3^- , em relação à diminuição da quantidade de N-NH_4^+ , pode ser explicada pelo fato de que o N amoniacal, proveniente da mineralização contínua do N orgânico dos dejetos não acumulou no solo, em função da sua rápida oxidação para N-NO_3^- , através da ação das bactérias nitrificadoras.

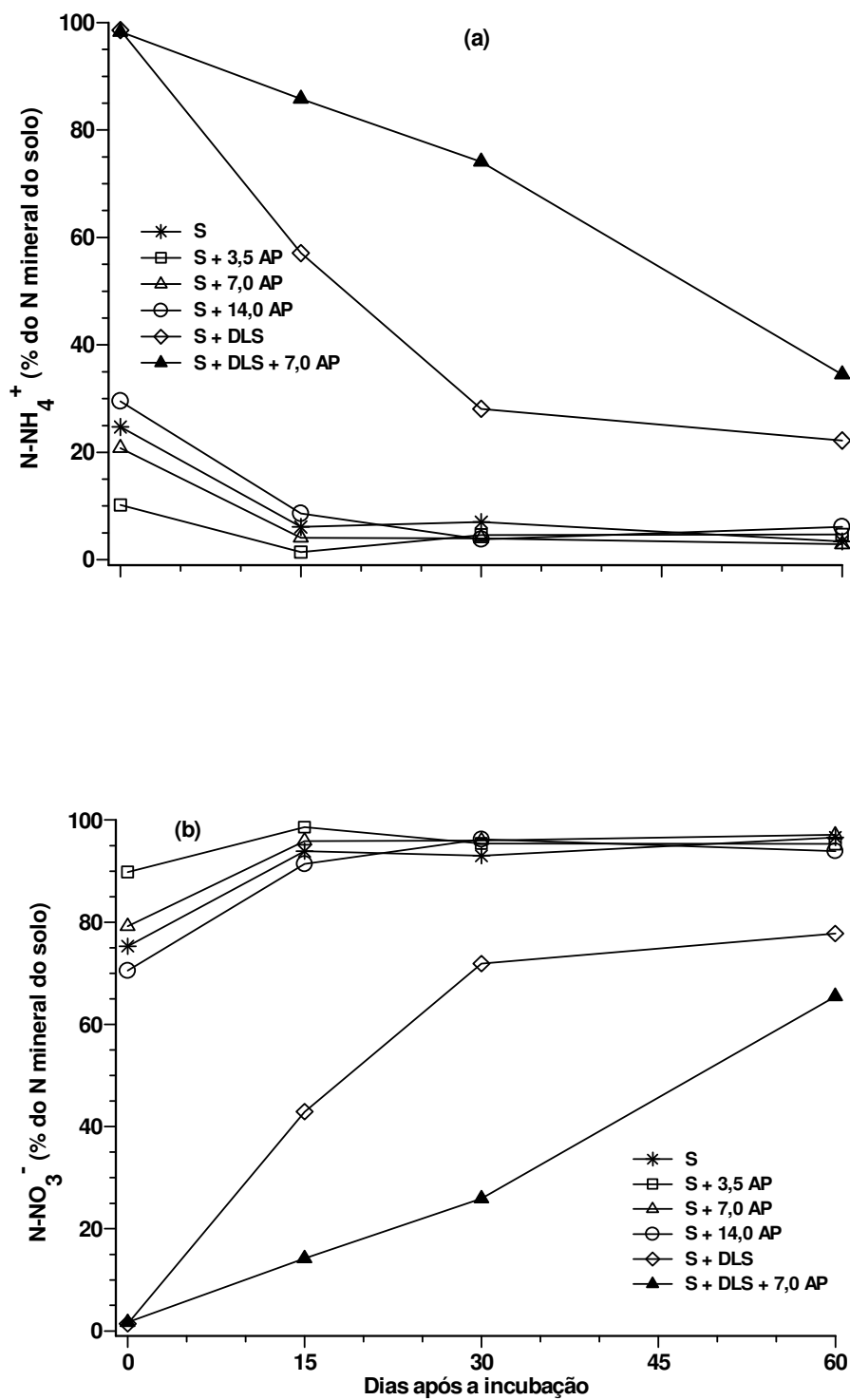


Figura 2.4 – Proporção de N-NH₄⁺ (a) e de N-NO₃⁻ (b) no solo em cada data de avaliação durante os 60 dias, no tratamento testemunha (S) e nos tratamentos com Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 kg ha⁻¹, e com dejetos suínos (DLS).

Tal aspecto também pode ser evidenciado comparando-se o desaparecimento de N-NH_4^+ e o acúmulo de N-NO_3^- do tratamento com o uso de dejetos e de Agrotain Plus no período de 30 a 60 dias, onde a nitrificação foi mais intensa nesse tratamento. A quantidade de N-NH_4^+ diminuiu em 43 mg kg^{-1} de solo ($1,4 \text{ mg de N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ de solo dia^{-1}) enquanto a quantidade de N-NO_3^- aumentou em 66 mg kg^{-1} de solo ($2,2 \text{ mg de N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ de solo dia^{-1}).

Os resultados mostrados na figuras 2.3a e 2.3b indicam que, mesmo sem a aplicação do inibidor de nitrificação, não houve oxidação completa do N amoniacal em 60 dias. Observa-se na figura 2.3a que ao final do experimento ainda havia no solo aproximadamente $31 \text{ mg de N kg}^{-1}$ na forma amoniacal, o que corresponde a 35% do N mineral do solo (Figura 2.4a). A redução na taxa de oxidação do N amoniacal ocorreu principalmente no período entre 30 e 60 dias, em que a taxa encontrada foi de apenas $0,2 \text{ mg de N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ de solo dia^{-1} . Nesse mesmo período, o acúmulo de N-NO_3^- também foi baixo, ocorrendo a uma taxa de $0,4 \text{ mg de N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ de solo dia^{-1} . É provável que a partir de 30 dias o potencial de nitrificação tenha sido limitado pela disponibilidade de substrato (N-NH_4^+) às bactérias nitrificadoras. Essa hipótese é respaldada pelo fato de que, no tratamento onde os dejetos foram adicionados ao solo junto com Agrotain Plus, a quantidade de N amoniacal do solo aos 30 dias era de $95 \text{ mg de N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ de solo (Figura 2.3a) e a taxa de desaparecimento desse N-NH_4^+ entre 30 e 60 dias foi de $1,4 \text{ mg de N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ de solo dia^{-1} .

A inibição da nitrificação do N amoniacal adicionado ao solo pelos dejetos de suínos, através da dicianodiamida (DCD), bem como a duração desse efeito inibitório podem ser visualizados na figura 2.3b, analisando a curva relativa ao acúmulo de N-NO_3^- no solo do tratamento onde o Agrotain Plus foi misturado aos dejetos (S + DLS + 7,0 AP). Observa-se que os teores de N-NO_3^- desse tratamento foram próximos aos do tratamento com adição do Agrotain Plus ao solo sem dejetos (S + 7,0 AP), o que indica a inibição total da nitrificação do N amoniacal dos dejetos nesse período inicial pelo Agrotain Plus, na dose de 7 kg ha^{-1} ($5,67 \text{ kg de DCD ha}^{-1}$). Após 15 dias, a DCD começou a perder o efeito inibitório da nitrificação, embora a nitrificação tenha ocorrido lentamente entre 15 e 30 dias, a uma taxa de acúmulo de N-NO_3^- de 1 mg kg^{-1} de solo dia^{-1} . A perda mais significativa da capacidade em inibir a nitrificação pela DCD ocorreu após 30 dias, onde o acúmulo de N-NO_3^- no solo até o final do experimento ocorreu a uma taxa de $2,1 \text{ mg kg}^{-1}$ de solo dia^{-1} . Todavia,

esse valor ainda foi menor do que aquele encontrado no tratamento em que os dejetos foram aplicados sem Agrotain Plus onde, na fase mais ativa da nitrificação (primeiros 30 dias), o N-NO_3^- acumulou no solo a uma taxa de $3,1 \text{ kg}^{-1}$ de solo dia^{-1} . Esse resultado, aliado ao fato de que, ao final do experimento, a quantidade de N amoniacal (Figura 2.3b) e a proporção de N mineral na forma de N-NH_4^+ (Figura 2.4a) foram maiores no tratamento com uso de Agrotain Plus junto aos dejetos (S + DLS + 7,0 AP) do que no tratamento sem Agrotain Plus (S + DLS) evidenciam que o efeito inibitório da DCD sobre a nitrificação do N amoniacal dos dejetos persistiu até o final do experimento.

Um aspecto que deve ser ressaltado é que todas essas considerações relativas à comparação entre as quantidades de N-NH_4^+ e de N-NO_3^- encontradas no solo durante a incubação se referem às quantidades líquidas de N mineral, as quais resultam de processos brutos e, concorrentes entre si. Em cada avaliação realizada, a quantidade de N-NH_4^+ encontrada no solo é resultante de processos produtores (mineralização/amonificação) e consumidores (imobilização e volatilização de NH_3) de N-NH_4^+ . As quantidades de N-NO_3^- , por sua vez, variam em função da sua produção pela nitrificação e consumo, pela imobilização e desnitrificação. A ação da chuva, que poderia transferir N-NO_3^- para camadas mais profundas do perfil do solo em um sistema aberto, pode ser considerada como nula no presente trabalho, já que o mesmo foi realizado em potes, num sistema fechado e sem ação das chuvas. As condições experimentais, com incorporação dos dejetos no solo, sem a adição de uma fonte de carbono, além dos compostos orgânicos presentes nos dejetos, e a condução do experimento sob condições não favoráveis à deficiência de O_2 no solo, permitem formular a hipótese de que as perdas de N por volatilização de NH_3 e por desnitrificação tenham sido mínimas. Assim, pode-se inferir que o acúmulo líquido de nitrato encontrado no trabalho seja próximo da nitrificação total do N amoniacal dos dejetos, ocorrida no sistema.

3.3.4 Efeito do Agrotain Plus sobre a atividade microbiana do solo

Quanto ao efeito do Agrotain Plus sobre a atividade microbiana, avaliado através da liberação de CO_2 , percebe-se a existência de dois grupos de tratamentos, seguindo a mesma distribuição observada anteriormente para o N mineral do solo. A maior liberação de CO_2 ocorreu nos dois tratamentos com uso de dejetos e a menor

no tratamento testemunha, sem dejetos e sem Agrotain Plus, e nos três tratamentos sem dejetos e com aplicação de Agrotain Plus nas doses de 3,5, 7,0 e 14 kg ha⁻¹ (Figura 2.5). Essa liberação diferenciada de C-CO₂ entre tais grupos de tratamentos está diretamente relacionada às quantidades de C adicionadas ao solo. Os dejetos de suínos constituem uma fonte de nutrientes, carbono e energia à população microbiana heterotrófica do solo, cuja população e atividade aumentam rapidamente após a adição dos dejetos (CHANTIGNY et al., 2001; DA LUZ, 2007).

Comparando os tratamentos sem o uso de dejetos, observa-se na figura 2.5 que os valores acumulados de C-CO₂ nos três tratamentos com adição de doses crescentes de Agrotain Plus não diferiram significativamente entre si e nem do tratamento testemunha, sem Agrotain Plus. Percebe-se apenas uma tendência do Agrotain Plus em reduzir a atividade microbiana do solo já que, na média dos tratamentos com Agrotain Plus, a liberação acumulada de C-CO₂ em 60 dias foi 14,3 % menor do que no tratamento testemunha. Trabalhando sob condições de campo durante três anos, Weiske et al. (2001), também constataram que a aplicação de DCD reduziu a mineralização do C do solo em 10%, embora esse efeito não tenha sido detectado em experimentos de laboratório. Assim como no trabalho de Weiske et al. (2001), não é possível atribuir essa tendência de redução da atividade microbiana, medida pela liberação de C-CO₂, no presente trabalho a um efeito inibitório do Agrotain Plus sobre a população microbiana, uma vez que se isso tivesse ocorrido, o efeito deveria estar diretamente relacionado à dose de Agrotain Plus Aplicada, o que não ocorreu. São necessários novos estudos para confirmar essa tendência observada.

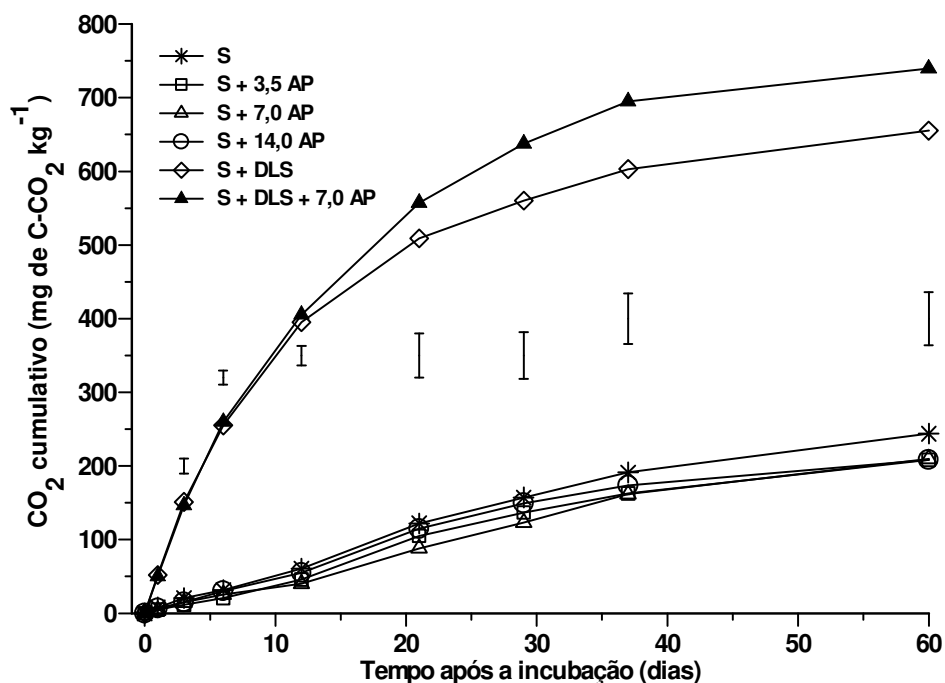


Figura 2.5 – Liberação cumulativa de C-CO₂ no tratamento testemunha (S) e nos tratamentos com Agrotain Plus (AP), nas doses de 3,5, 7,0 e 14,0 kg ha⁻¹, e com dejetos suínos (DLS). As barras verticais representam a diferença mínima significativa (Tukey a 5%) entre os tratamentos.

Na figura 2.5 observa-se que, a partir de 15 dias, a quantidade acumulada de C-CO₂ do tratamento em que os dejetos foram aplicados juntamente com Agrotain Plus (S + DLS + 7,0 AP) foi maior do que no tratamento com uso exclusivo de dejetos (S + DLS), confirmando os resultados obtidos no capítulo I. Esse efeito do Agrotain Plus no aumento da liberação de C-CO₂, quando o produto foi misturado aos dejetos, é percebido mais claramente na figura 2.6, onde foi calculada a quantidade de C mineralizada durante o experimento nos dois tratamentos com dejetos.

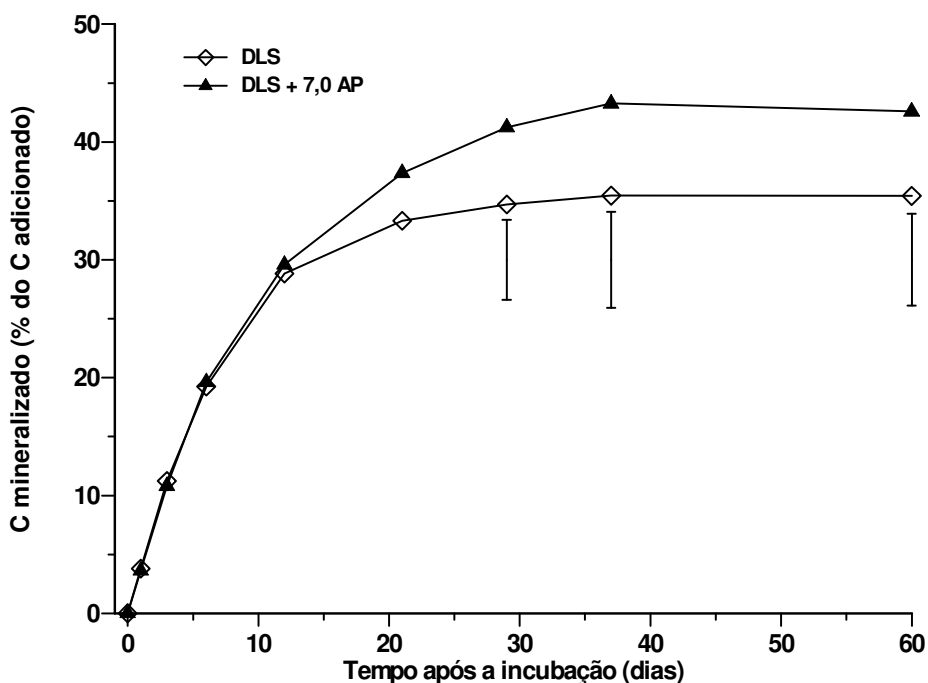


Figura 2.6 – C mineralizado em relação à % de C adicionado ao solo, nos tratamentos com dejetos de suínos (DLS) e dejetos mais Agrotain Plus (AP), na dose de 7 kg ha^{-1} . As barras verticais representam a diferença mínima significativa (Tukey a 5%) entre os tratamentos.

Comparando as duas curvas da figura 2.6 observa-se que as quantidades acumuladas de C-CO₂ (Figura 2.5) representam uma mineralização de 35% do C adicionado ao solo pelos dejetos e de 43% do C adicionado pela mistura dos dejetos com o Agrotain Plus. Essa diferença de 9 % a mais na mineralização do C, quando o Agrotain Plus foi misturado aos dejetos, indica que o produto pode ter estimulado a população microbiana do solo. Todavia, a dicianodiamida (DCD), que predomina no Agrotain Plus, tem apenas efeito bacteriostático, inibindo a ação das bactérias nitrificadoras e sem afetar os microrganismos heterotróficos (AMBERGER, 1989). Por isso, o efeito observado não deve estar relacionado à ação do Agrotain Plus sobre a população heterotrófica atuante na decomposição dos dejetos, mas sim ao seu efeito sobre as bactérias responsáveis pela oxidação de amônia a nitrito. O fato de o produto ter inibido a nitrificação, principalmente nos primeiros 30 dias, reduziu a

população de bactérias nitrificadoras e, conseqüentemente o consumo de C-CO₂ necessário a síntese celular, uma vez que tais bactérias são autotróficas. Esse C-CO₂ produzido pela população microbiana heterotrófica deve ter sido captado pelo NaOH, resultando em maior liberação do que no tratamento com uso exclusivo de dejetos, onde a nitrificação não foi inibida e parte do C-CO₂ foi convertido em biomassa de nitrificadoras. Em experimento realizado em laboratório por Denecke; Liebig (2003) o dióxido de carbono afetou positivamente a comunidade de bactérias nitrificadoras do solo, embora esse efeito só tenha ocorrido até determinados níveis de CO₂. Esse possível efeito do inibidor de nitrificação, já constatado no capítulo I, não tem sido mencionado na literatura e carece de confirmação em trabalhos futuros.

3.4 Conclusões

1. A adição de DCD ao solo, com o produto Agrotain Plus, em doses variando de 3,5 a 14 kg ha⁻¹ não teve efeito sobre a atividade microbiana, medida pela evolução de CO₂, e nem sobre a mineralização do N do solo.
2. A adição de Agrotain Plus na dose de 7 kg ha⁻¹ (5,6 kg de DCD ha⁻¹) inibiu a nitrificação do N amoniacal dos dejetos de suínos durante 30 dias, sendo que o processo foi completamente inibido nos primeiros 15 dias.
3. Quando o Agrotain Plus foi misturado aos dejetos de suínos, a liberação de CO₂ aumentou, em relação ao uso isolado dos dejetos.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AITA, C.; GIACOMINI, S. J.; HÜBNER, A. P. Nitrificação do nitrogênio amoniacal de dejetos líquidos suínos em solo sob sistema de plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.1, p.95-102, 2007.

ALI, R. et al. Effect of dicyandiamide on microbial activity in the rhizosphere and bulk soils under cotton. **Pakistan Journal of Botany**, v.41, n.3, p.1401-1409, 2009.

AMBERGER, A. Research on dicyandiamide as a nitrification inhibitor and future outlook. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.20, n.19-20, p.1933-1955, 1989.

ASING, J. et al. Assessment of nitrogen losses from urea and organic manure with and without nitrification inhibitor, dicyandiamide, applied to lettuce under glasshouse conditions. **Australian Journal of Soil Research**, v.46, n. 6-7, p.535-541, 2008.

AZAM, F. et al. Effect of CO₂ on nitrification and immobilization of NH₄⁺-N. **Biology and Fertility of Soils**, v.40, n.6, p.427-431, 2004.

BARTH, R. **Inibidores de urease e de nitrificação na eficiência de uso de adubos nitrogenados**. 2009. 79 p. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP. 2009.

BASSO, C. J., et al. Perdas de nitrogênio de dejetos líquido de suínos por volatilização de amônia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.6, p.1773-1778, Novembro, 2004.

BURGER, M.; VENTEREA, R. T. Nitrogen Immobilization and Mineralization Kinetics of Cattle, Hog, and Turkey Manure Applied to Soil. **Soil Science Society America**, v.72, n.6, p.1570-1579, 2008.

CARGNIN, R. H. O. **Biotransformações do nitrogênio no solo durante a decomposição de palha de trigo e dejetos líquidos de Suínos**. Santa Maria: UFSM, 2007. 74p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, 2007.

CARLEY, C. A. **Strategies to improve crop recovery of swine manure nitrogen**. 2009. 61 p. Thesis (Master). University of Saskatchewan, Saskatoon, Canadá. 2007. CHANTIGNY, M.H.; ROCHETTE, P.; ANGERS, D. A. Short-term C and N dynamics in a soil amended with pig slurry and barley straw: a field experiment. **Canadian Journal of Soil Science**, v.81, p.131-137, 2001.

CHAVES, B. et al. Influence of DCD and DMPP on soil N dynamics after incorporation of vegetable crop residues. **Biology and Fertility of Soils**, v.43, n.1, p.62-68, 2006.

COOKSON, W.R.; CORNFORTH, I.S. Dicyandiamide slows nitrification in dairy cattle urine patches: effects on soil solution composition, soil pH and pasture yield. **Soil Biology & Biochemistry**, v.34, n.10, p.1461-1465, 2002.

COOPER, P.; CORNFORTH, I. S. Volatile fatty acids in stored animal slurry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.29, n.1, p. 19-27, 1978.

DA LUZ, L. P. **Dinâmica do carbono durante a decomposição de palha de trigo marcada com ^{13}C e dejetos líquidos de suínos**. Santa Maria: UFSM, 2007. 72p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, 2007.

DAMASCENO, F. **Injeção de dejetos líquidos suínos no solo e inibidor de nitrificação como estratégias para reduzir as emissões de amônia e óxido nítrico**. Santa Maria: UFSM, 2010. 122p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, 2010.

DENECKE, M.; LIEBIG, T. Effect of carbon dioxide on nitrification rates. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v.25, n.4, p.249-253, 2003.

DI, H. J.; CAMERON, K. C. The use of a nitrification inhibitor, dicyandiamide (DCD), to decrease nitrate leaching and nitrous oxide emissions in a simulated grazed and irrigated grassland. **Soil Use and Management**, v.18, n.4, p.395-403, 2002.

DUARTE, F. M.; et al. Perdas de nitrogênio por volatilização de amônia com aplicação de uréia em solo de várzea com diferentes níveis de umidade. **Ciência Rural**, v.37, n.3, p.705-711, 2007.

EDMEADES, D.C. Nitrification and Urease inhibitors: A review of the national and international literature on their effects on nitrate leaching, greenhouse gas emissions

and ammonia volatilization from temperate legume-based pastoral systems. **Environment Waikato Technical Report**, n. 22, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro, RJ. 2006. 306 p

FLOWERS, T. H.; ARNOLD, P. W. Immobilization and mineralization of nitrogen in soils incubated with pig slurry or ammonium sulphate. **Soil Biology and Biochemistry**, v.15, n.3, p.329-335, 1983.

FRYE, W. Nitrification inhibition for nitrogen efficiency and environment protection. In: **IFA International Workshop on Enhanced-Efficiency Fertilizers**. Germany, p.28-30, 2005.

GANGBAZO, G. et al. Water contamination by ammonium nitrogen following the spreading of hog manure and mineral fertilizers. **Journal of Environmental Quality**, v. 24, n.3, p. 420-425, 1995.

GIACOMINI, S. J. **Avaliação e modelização da dinâmica de carbono e nitrogênio em solo com o uso de dejetos suínos**. Santa Maria: UFSM, 2005. 247p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, 2005.

_____, et al. Imobilização do nitrogênio amoniacal de dejetos líquidos de suínos em plantio direto e preparo reduzido do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, n.1, p.41-50, 2009.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em [Http://www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br). Acesso em 05/04/2010.

KELLIHER, F.M., et al. The temperature dependence of dicyandiamide (DCD) degradation in soils: A data synthesis. **Soil Biology & Biochemistry**, v.40, n.7, p.1878-1882, 2008.

LOYON, L., et al. Gaseous emissions (NH₃, N₂O, CH₄, CO₂) during pig slurry biological aerobic treatment and treatment by-product storages. **International Congress Series**, v.1293, p.299-302, 2006.

MANUNZA, B., et al. The binding mechanism of urea, hydroxamic acid and N (N-butyl)-phosphoric triamide to the urease active site. A comparative molecular dynamics study. **Soil Biology and Biochemistry**, v.31, n.5, p. 789-796, 1999.

MARCELINO, R. **Inibidor de nitrificação em fertilizantes nitrogenados e rendimento de milho**. 2009. 98 p. Dissertação (Mestrado). - Campinas, SP: Instituto Agrônomo, 2009.

MARY, B., RECOUS, S. Measurement of nitrogen mineralization and immobilization fluxes in soil as a mean of predicting net mineralization. **European Journal of Agronomy**, v.3, p. 291-300, 1994.

_____, et al. Interactions between decomposition of plant residues and nitrogen cycling in soil. **Plant and Soil**, v. 181, p. 71-82, 1996.

MENNEER, J C.; LEDGARD, S.; SPROSEN, M. Soil N process inhibitors alter nitrogen leaching dynamics in a pumice soil. **Australian Journal of Soil Research**, v.46, n.4, p. 323-331, 2008.

MKHABELA, M.S, et al. Ammonia and nitrous oxide emissions from two acidic soils of Nova Scotia fertilized with liquid hog manure mixed with or without dicyandiamide. **Chemosphere**, v.65, n.8, p. 1381-1387, 2006.

MOIR, J.L.; CAMERON, K.C.; DI, H.J. Effects of the nitrification inhibitor dicyandiamide on soil mineral N, pasture yield, nutrient uptake and pasture quality in a grazed pasture system. **Soil Use and Management**, v.23, n.2, p.111-120, 2007.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2ed, 2006. 729 p.

PANETTA, D. M.; POWERS, W. J.; LORIMOR, J. C. Management strategies impacts on ammonia volatilization from swine manure. **Journal of Environmental Quality**, v. 34, n.3, p.1119-1130, 2005.

PEREIRA, J., et al. Effect of cattle slurry pre-treatment by separation and addition of nitrification inhibitors on gaseous emissions and N dynamics: A laboratory study. **Chemosphere**, v.79, n.6, p. 620-627, 2010.

PORT, O.; AITA, C.; GIACOMINI, S. J. Perda de nitrogênio por volatilização de amônia com o uso de dejetos de suínos em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.38, n.7, p. 857-865, 2003.

PUJOL, S. B. **Biogrânulos aeróbicos em reator seqüencial em batelada para o tratamento de efluente de biodigestor proveniente da suinocultura**. Santa Maria:

UFSM, 2008. 94 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Maria, 2008.

RAJBANSHI, S.S., BENCKISER, G., OTTOW, J.C.G. Effects of concentration, incubation temperature, and repeated applications on degradation kinetics of dicyandiamide (DCD) in model experiments with a silt loam soil. **Biology and Fertility of Soils**, v.13, n.2, p.61-64, 1992.

SINGH, J., et al. Decomposition of dicyandiamide (DCD) in three contrasting soils and its effect on nitrous oxide emission, soil respiratory activity, and microbial biomass: an incubation study. **Australian Journal of Soil Research**, v.46, n.6-7, p.517-525, 2008a.

_____, et al. 'The Role of Inhibitors in the Bioavailability and Mitigation of Nitrogen Losses in Grassland Ecosystems'. In: NAIDU, R.; MCBRATNEY, A. B.; HARTEMINK, A. E. (Eds). **Developments in Soil Science**, Elsevier Ltd, US, cap. 15, p.329-362, 2008b.

SOMMER, S.G., et al. Processes controlling ammonia emissions from livestock slurry in the field. **European Journal of Agronomy**, v.19, n.4, p.465-486, 2003.

_____; HUSTED, S. The chemical buffer system in raw and digested animal slurry. **Journal of Agricultural Science**, v.124, p.45-53, 1995.

STOTZKY, G. **Microbial respiration**. In BLACK, C. A. (Org.) **Agronomy 9**, Part 2. Madison: American Society of Agronomy, p.1550-1572, 1965.

SUBBARAO, G. V., et al. Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems - challenges and opportunities. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.25, n.4, p.303-335, 2006.

SYLVIA, D.M., et al. **Principles and applications of soil microbiology**. New Jersey: Prentice Hall, 1998. 550 p.

TAO, X.; MATSUNAKA, T.; SAWAMOTO, T. Dicyandiamide application plus incorporation into soil reduces N₂O and NH₃ emissions from anaerobically digested cattle slurry. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.48, n.2, p.169-174, 2008.

TEDESCO, M. J., et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995, 174 p.

VALLEJO, A., et al. Comparison of N losses (NO_3^- , N_2O , NO) from surface applied, injected or amended (DCD) pig slurry of an irrigated soil in a Mediterranean climate. **Plant and soil**, v.272, n.1-2, p.313-325, 2005.

VAREL, V.H. Use of urease inhibitors to control nitrogen loss from livestock waste. **Bioresource Technology**, v.62, n.1-2, p.11-17, 1997.

WEISKE, A. et al. Influence of the nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) in comparison to dicyandiamide (DCD) on nitrous oxide emissions, carbon dioxide fluxes and methane oxidation during 3 years of repeated application in field experiments. **Biology and Fertility of Soils**, v.34, n.2, p.109-117, 2001.

WILLIAMSON, J. C., et al. Impact of dicyandiamide on the internal nitrogen cycle of a volcanic, silt loam soil receiving effluent. **Applied Soil Ecology**, v.4, n.1, p.39-48, 1996.

ZAMAN, M., et al. Can soil amendments (zeolite or lime) shift the balance between nitrous oxide and dinitrogen emissions from pasture and wetland receiving urine or urea-N? **Australian Journal of Soil Research**, v.45, n.7, p.543-553, 2007.

_____, et al. Reducing NH_3 , N_2O and NO_3^- N losses from a pasture soil with urease nitrification inhibitors and elemental S-amended nitrogenous fertilizers. **Biology and Fertility of Soils**, v.44, n.5, p.693-705, 2008.

_____, et al. Effect of urease and nitrification inhibitors on N transformation, gaseous emissions of ammonia and nitrous oxide, pasture yield and N uptake in grazed pasture system. **Soil Biology & Biochemistry**, v.41, n.6, p.1270-1280, 2009.

_____; BLENNERHASSETT, J. D. Effects of the different rates of urease and nitrification inhibitors on gaseous emissions of ammonia and nitrous oxide, nitrate leaching and pasture production from urine patches in an intensive grazed pasture system. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.136, n.3-4, p.236-246, 2010.