

Marcação de leguminosa com ^{15}N para estudos da dinâmica de N, derivado de adubo verde, no sistema solo-planta



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agrobiologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 72

**Marcação de leguminosa
com ^{15}N para estudos
da dinâmica de N,
derivado de adubo verde,
no sistema solo-planta**

Emerson Dalla Chieza
Ednaldo da Silva Araújo
José Guilherme Marinho Guerra
José Antonio Azevedo Espindola
Marco Antonio de Almeida Leal
Janaína Costa Ribeiro Rouws
Segundo Urquiaga
Robert Michael Boddey
Bruno José Rodrigues Alves

Embrapa Agrobiologia
Seropédica, RJ
2011

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agrobiologia

BR 465, km 7, CEP 23.851-970, Seropédica, RJ

Caixa Postal 74505

Fone: (21) 3441-1500

Fax: (21) 2682-1230

Home page: www.cnpab.embrapa.br

E-mail: sac@cnpab.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: Norma Gouvêa Rumjanek

Secretária-Executivo: Carmelita do Espírito Santo

Membros: Bruno José Alves, Ednaldo da Silva Araújo, Guilherme

Montandon Chaer, José Ivo Baldani, Luis Henrique de Barros Soares

Revisão de texto: Cláudia Pozzi Jantalia, Ederson da Conceição

Jesus, Jerri Edson Zilli, Marta dos Santos Freire Ricci

Normalização bibliográfica: Carmelita do Espírito Santo

Tratamento de ilustrações: Maria Christine Saraiva Barbosa

Editoração eletrônica: Marta Maria Gonçalves Bahia

Foto da capa: Emerson Dalla Chieza

1ª edição

1ª impressão (2011): 50 exemplares

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Agrobiologia

MARCAÇÃO de leguminosa com ¹⁵N para estudos da dinâmica de N, derivado de adubo verde, no sistema solo-planta. / Emerson Dalla Chieza et al. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2011. 16 p. (Embrapa Agrobiologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 72).

ISSN 1676-6709

1. *Canavalia ensiformis*. 2. Adubação verde.

Produtividade de N. I. Dalla Chieza, Emerson. II. Araújo, Ednaldo da S. III. Guerra, José Guilherme M. IV. Espindola, José Antonio A. V. Leal, Marco Antonio de A. VI. Rouws, Janaína C. R. VII. Urquiaga, Segundo. VIII. Boddey, Robert M. IX. Bruno J. R. Alves. X. Embrapa Agrobiologia. XI. Série.

631.86 CDD 23 ed.

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução	7
Material e Métodos	8
Resultados e Discussão	10
Conclusão	14
Agradecimentos	14
Referências Bibliográficas	15

Marcação de leguminosa com ^{15}N para estudos da dinâmica de N, derivado de adubo verde, no sistema solo-planta

Emerson Dalla Chieza², Ednaldo da Silva Araújo¹, José Guilherme Marinho Guerra¹, José Antonio Azevedo Espindola¹, Marco Antonio de Almeida Leal¹, Janaína Costa Ribeiro¹, Segundo Urquiaga¹, Robert Michael Boddey¹, Bruno José Rodrigues Alves¹

Resumo

O uso de adubo verde marcado com ^{15}N é estratégico para estudos da dinâmica de N no sistema solo-planta, contribuindo para recomendações de manejo que possam otimizar o potencial dos adubos verdes. Uma técnica que garanta a marcação das plantas com um enriquecimento de ^{15}N igual ou próximo ao planejado e com uso racional de N contribuirá para otimizar os estudos sobre a dinâmica de N. O presente estudo teve como objetivo marcar leguminosa, utilizada como adubo verde, com uma taxa de enriquecimento planejada e com alta eficiência de uso do ^{15}N aplicado em substrato composto por areia e vermiculita expandida. O experimento foi conduzido em casa de vegetação não estéril. Foram cultivadas plantas de feijão de porco (*Canavalia ensiformis*) em vasos com capacidade para 10 litros contendo o substrato. Os tratamentos consistiram em seis diferentes doses de nitrogênio (N-total), com 60, 120, 180, 240, 300 e 360 mg de N kg⁻¹ de substrato, fornecidas na forma de uréia com 3% de átomos de ^{15}N . Os resultados demonstram que a aplicação de 360 mg de N kg substrato⁻¹, composto por areia e vermiculita expandida, em condição não estéril, permite obter adubo verde marcado com ^{15}N de forma planejada e com eficiência de uso do ^{15}N adicionado superior a 70%.

¹ Pesquisador da Embrapa Agrobiologia.

² Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, UFRRJ.

Marking of legumes with ^{15}N to study the dynamics of N derived from green manure in the soil-plant system

Abstract

*The use of green manure labeled with ^{15}N is strategic for studies of the dynamics of N in soil-plant system, contributing to recommendations of management which can optimize the potential of green manures. A technique that assures the labeling of plants with ^{15}N similar or close to the planned level and with rational use of N will contribute to optimize the studies on the dynamics of N. This study aimed to label green manure with a planned rate of enrichment and a high-efficiency use of ^{15}N applied to a substrate composed of sand and expanded vermiculite. The experiment was conducted in a greenhouse, under non sterile conditions. *Canavalia ensiformis* were grown in vessels with a capacity of 10 L, filled with a substrate composed of washed sand and expanded vermiculite. The treatments consisted of six different doses of nitrogen (N-total), with 60, 120, 180, 240, 300 and 360 mg N kg⁻¹ of substrate supplied in the form of urea, with 3% ^{15}N atoms. The application of 360 mg N kg⁻¹ substrate, composed of sand and expanded vermiculite, in non-sterile conditions, results in ^{15}N -labeled green manure with ^{15}N contents near to the planned and efficiency of use of N added in more than 70%.*

Keywords: *Canavalia ensiformis, green manure, N enrichment.*

Introdução

Em um agroecossistema, o nitrogênio (N) fornecido na forma de adubo verde é muito dinâmico. O N aplicado pode ser absorvido pela cultura de importância econômica, permanecer na superfície do solo na forma de resíduos, ser absorvido por plantas espontâneas, ser imobilizado no solo ou perdido, seja por lixiviação de nitrato ou volatilização de amônia (ARAÚJO et al., 2011). Dessa forma, o uso de adubo verde marcado com ^{15}N é estratégico para o estudo dessa dinâmica, contribuindo para recomendação de manejo que possa otimizar o potencial dos adubos verdes.

A dinâmica do N derivado do adubo verde pode ser estudada com uso do isótopo ^{15}N de forma indireta (URQUIAGA e ZAPATA et al., 2000) e direta (CUETO-WONG et al., 2001; AMBROSANO et al., 1997). De acordo com Araújo et al. (2011), a forma indireta consiste em aplicar, em uma mesma planta, duas fontes distintas de N, uma na forma de adubo verde e outra na forma de adubo nitrogenado sintético marcado com ^{15}N . Em uma segunda planta, aplica-se apenas o adubo nitrogenado sintético marcado com ^{15}N . Por meio da diferença de marcação com ^{15}N entre as plantas crescidas com e sem adubação verde, estima-se a percentagem de N transferido do adubo verde para cultura em teste. Já o método direto consiste em duas etapas. Na primeira etapa, efetua-se a marcação dos adubos verde com ^{15}N . Para isso, cultiva-se a espécie para adubação verde em substrato contendo ^{15}N . Na segunda etapa, o material vegetal marcado é aplicado como adubo verde para cultura em teste. A partir da marcação com ^{15}N , observada após a colheita da cultura crescida sob a palhada marcada, estima-se o N derivado do adubo verde.

Uma das vantagens do método direto consiste em permitir, além da determinação da transferência de N do adubo verde para a cultura de importância econômica, avaliar toda dinâmica de N derivado do adubo verde no sistema solo-planta. Entretanto, para o uso dessa técnica há necessidade de se produzir grande quantidade de biomassa vegetal marcada com ^{15}N , o que torna o estudo caro e laborioso, principalmente quando se utiliza adubo nitrogenado sintético com alto enriquecimento com ^{15}N e em condições de baixa eficiência de uso do N. Dois fatores podem

contribuir para o aumento da necessidade de ^{15}N no processo de marcação. O primeiro deles ocorre quando o processo de marcação da leguminosa é realizado em solo. Isso ocasiona uma diluição do ^{15}N no N do solo, reduzindo a eficiência do N aplicado. O segundo fator está relacionado à presença de bactérias fixadoras de N no substrato, o que contribui para diluir o ^{15}N no N obtido via fixação biológica. Nos dois casos, de um modo geral, além da redução da eficiência de uso do ^{15}N aplicado, não permite prever a marcação final da leguminosa.

Cueto-Wong et al. (2001) e Ambrosano et al. (1997), em estudos utilizando adubos nitrogenados com marcação superior a 10% de átomos de ^{15}N , observaram que a percentagem de N derivada do fertilizante encontrado no adubo verde marcado varia de 28 a 60%. Nesses estudos, o resultado da marcação é imprevisível, pois vai depender da quantidade de N disponível no solo ou da taxa de fixação biológica de N.

Nesse sentido, uma técnica que possa garantir marcação das plantas com um enriquecimento de ^{15}N igual ou próximo ao planejado e com uso racional de N contribuirá para otimizar os estudos sobre a dinâmica de N derivado da adubação verde no sistema solo-planta. Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo marcar leguminosa, utilizada como adubo verde, com uma taxa de enriquecimento planejada e com alta eficiência de uso do ^{15}N aplicado em substrato composto por areia e vermiculita expandida.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação não estéril com circulação de ar, entre os meses de abril e junho de 2011. Foram cultivadas plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) em vasos com capacidade para 10 litros, os quais continham 9,37 kg de substrato (mistura de areia lavada e vermiculita expandida na proporção 1:1 v/v).

A cultura foi semeada no dia 06/04/2011, onde foram colocadas 6 sementes por vaso, previamente desinfetadas deixando-as mergulhadas

em álcool 70% por cinco minutos, posteriormente imersas em solução de hipoclorito de sódio 1% por mais 3 minutos, sendo em seguida, lavadas dez vezes em água estéril, segundo Lima et al. (2005). Transcorridos 10 dias após a semeadura (DAS), foi feito desbaste nos vasos, deixando apenas quatro plantas em cada.

Os tratamentos consistiram em seis diferentes doses de nitrogênio (N-total): 60, 120, 180, 240, 300 e 360 mg de N kg⁻¹ de substrato, fornecidas na forma de uréia com 3% de átomos de ^{15}N . O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. Todos os tratamentos receberam a mesma adubação, exceto N. A adubação consistiu na adição de macronutrientes, conforme Tab. 1 e micronutrientes na forma de FTE BR 12 (1g vaso⁻¹) e 1 ml kg⁻¹ de substrato da solução de micronutrientes descrita por Franco e Döbereiner (1967).

Com a finalidade de minimizar perdas, bem como reduzir possíveis problemas com a condutividade elétrica do substrato, para alguns nutrientes, a dose total foi parcelada. No caso do N, optou-se por cinco aplicações distribuídas da seguinte maneira: duas aplicações de 12,5% da dose, aos 6 e aos 12 DAS, e mais três aplicações de 25% de cada dose, aos 21, 34 e 48 DAS. Para o potássio (K), foi aplicado 50% da dose na pré-semeadura, e o restante 21 dias após a mesma. Já o magnésio (Mg), foi dividido em duas aplicações de 50% da dose cada, aos 27 e aos 47 DAS. Com exceção da primeira

Tabela 1. Fontes e quantidades de nutrientes fornecidos no cultivo de feijão-deporco (*Canavalia ensiformis*) em casa de vegetação - Seropédica, abril de 2011.

Fonte	g vaso ⁻¹ do fertilizante	Nutriente (mg kg ⁻¹ de substrato)				
		P	K	Ca	Mg	S
Superfosfato simples	37,87	317		722		485
Sulfato de Potássio (dihidratado)	2,30		91			37
Calcário dolomítico	0,90			19,2	9,3	
Sulfato de Magnésio (heptahidratado)	3,80				40	53
Total	-	317	91	741	49,3	575

aplicação de K, que foi misturado ao substrato, todas as outras aplicações, acima referidas, foram feitas via soluções vertidas em superfície, com posterior irrigação com água deionizada.

Os tratos culturais consistiram na aplicação de calda sulfocálcica 1% + óleo de Neen (NF) para o controle de pulgão (*Brevicoryne brassicae* L.) e mosca branca (*Bemisia argentifolii*).

As plantas foram coletadas aos 58 DAS. A parte aérea foi levada à estufa 65°C, com circulação de ar forçado, até peso constante. Após a mensuração de matéria seca (MS), as amostras foram moídas em moinho tipo Willey, equipado com peneira de 2 mm. Do material triturado, de cada repetição, uma subamostra seguiu para determinação de teor de nitrogênio (N) pelo método de Kjeldahl (ALVES et al., 1994) e outra para a determinação de átomos de ^{15}N em excesso (RAMOS et al., 2001).

As médias dos tratamentos com diferenças significativas pelo teste F na análise de variância foram submetidas à análise de regressão para o fator dose, com auxílio do pacote estatístico SISVAR[®] 5.1.

Resultados e Discussão

Para produção de biomassa aérea do feijão-de-porco (BS), observou-se um aumento linear em função das doses de N utilizadas no estudo (Fig. 1). De acordo esses dados, doses de até 360 mg de N kg⁻¹ de substrato proporcionam um incremento de 0,15 g vaso⁻¹ de BS para cada mg de N aplicado. O ajuste pelo modelo linear indica que, mesmo a maior dose utilizada, não foi suficiente para atingir o consumo de luxo. A maior dose utilizada é superior as doses observadas na literatura (AMBROSANO et al., 1997; CUETO-WONG et al., 2001; ARAÚJO et al., 2011). Isso demonstra que é possível otimizar a produção de biomassa aumentando-se a dose de N em vasos com capacidades de apenas 10 L, reduzindo a mão-de-obra; a quantidade de areia e de vermiculita quando comparado a vasos maiores, como por exemplo, vasos com capacidade de 20 L (CUETO-WONG et al., 2001) ou 40 L (ARAÚJO et al., 2011).

A biomassa de raízes não foi afetada com a adição das diferentes doses de N, sendo a produção média de biomassa seca de raízes igual a $14,5 \text{ g vaso}^{-1}$. Entretanto, o N aplicado influenciou a produção de biomassa de nódulos - BSN (Fig. 2). Para produção de BSN, o melhor ajuste foi obtido pelo modelo quadrático. A dose de máxima produção de nódulos foi de $138 \text{ mg de N kg substrato}^{-1}$. Esses resultados indicam que doses de N baixas permitem a formação de nódulos e, conseqüentemente, favorecem a fixação biológica de N, promovendo diluição do N aplicado. De fato, observou-se que quanto maior a dose de N aplicada maior foi a eficiência de uso do N (Fig. 3). Cabe destacar que essa informação é verdadeira para o intervalo de doses estudado, já que doses superiores a estas podem atingir o consumo de luxo ou de toxidez e ocasionar baixo eficiência de uso de N.

A marcação da biomassa do feijão-de-porco com ^{15}N seguiu a mesma tendência observada para produção de biomassa aérea e eficiência de uso de N. A marcação da biomassa, também, foi ajustada pelo modelo linear (Fig. 4). Indicando que, dentro do intervalo de doses estudado, para cada mg de N (com 3% de átomos de ^{15}N) kg^{-1} de substrato ocorre um

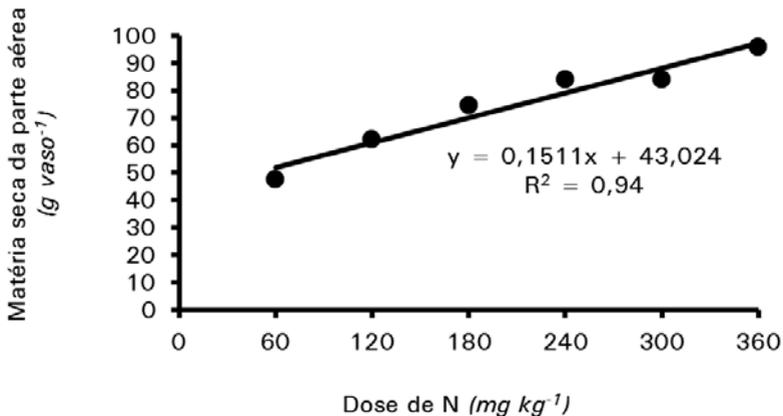


Fig. 1. Biomassa seca da parte aérea do feijão-de-porco em função de doses crescente de N uréia com 3% de átomos de ^{15}N em substrato areia lavada + vermiculita expandida (1:1 v/v).

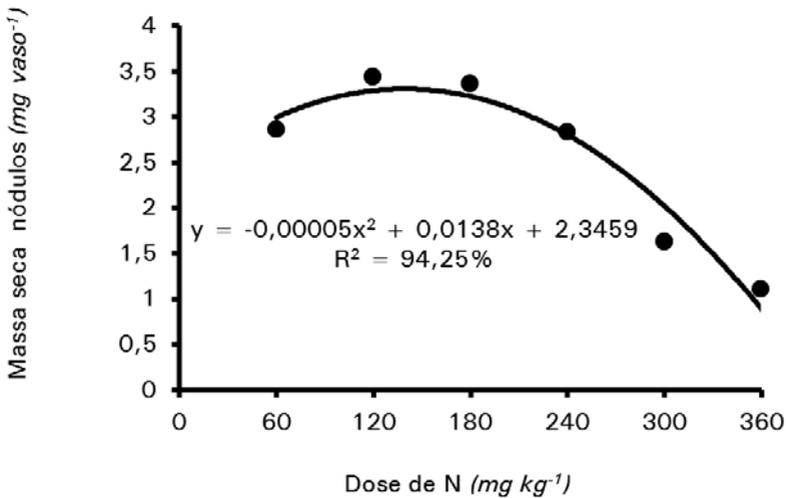


Fig. 2. Biomassa seca de nódulos de feijão-de-porco em função de doses crescente de N-uréia com 3% de átomos de ^{15}N em substrato areia lavada+ vermiculita expandida (1:1 v/v).

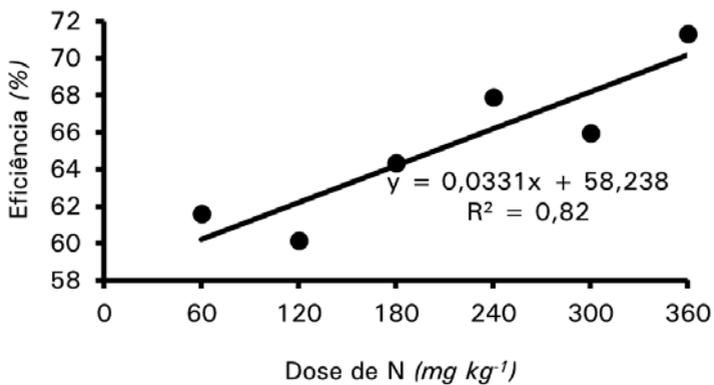


Fig. 3. Eficiência de recuperação de N aplicado no feijão de porco em função de doses crescente de N-uréia com 3% de átomos de ^{15}N em substrato areia lavada + vermiculita expandida (1:1 v/v).

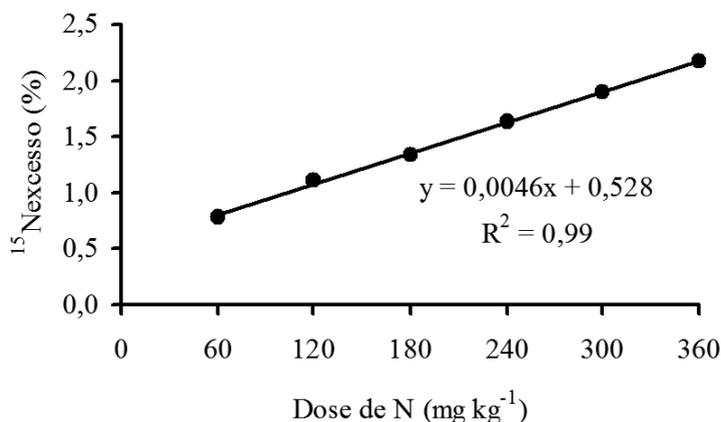


Fig. 4. Marcação com ^{15}N ($^{15}\text{N}_{\text{excesso}}$) na parte aérea do feijão de porco em função de doses crescente de N-uréia com 3% de átomos de ^{15}N em substrato areia lavada + vermiculita expandida (1:1 v/v).

incremento significativo de 0,0046% de ^{15}N em excesso na biomassa aérea. Na dose de 360 mg de N kg⁻¹ de substrato obteve-se uma marcação de 2,17% (átomos de ^{15}N excesso). Considerando que a fonte de N utilizada continha uma marcação de 2,63% (átomos de ^{15}N excesso), a marcação do adubo verde é de apenas 17,5% inferior à marcação do adubo. Isso, associado ao efeito linear da dose sobre a marcação da biomassa do feijão-de-porco torna previsível a marcação final do adubo verde.

De acordo com as metodologias encontradas na literatura, também em condições de vaso, a diferença de marcação entre o adubo utilizado e o adubo verde marcado varia de 53 a 72% (CUETO-WONG et al., 2001; AMBROSANO et al., 1997). Ambrosano et al. (2003), utilizando adubo com 70,4% de átomos de ^{15}N aplicado diretamente no solo em condições de campo, obtiveram adubo verde marcado com 2,412%, portando 96% inferior a marcação do adubo. Nessa condição, além do alto gasto com ^{15}N , essa marcação pode variar em função do tipo de solo e da taxa de fixação biológica de N. Dessa forma, a metodologia proposta no presente estudo,

além de contribuir para otimizar o uso do ^{15}N reduzindo o custo do estudo, favorece a obtenção de adubo verde com marcação igual ou próxima da marcação planejada.

Conclusão

A aplicação de 360 mg de N kg⁻¹ de substrato, composto por areia e vermiculita expandida, em condição não estéril, permite obter adubo verde marcado com ^{15}N de forma planejada e com eficiência de uso do ^{15}N adicionado superior a 70%.

Agradecimentos

CNPq e FAPERJ.

Referências Bibliográficas

ALVES, B. J. R.; SANTOS, J. C. F. dos; BODDEY, R. M. Métodos de determinação do nitrogênio em solo e planta. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. S. (Ed.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. p. 449-470. (Embrapa-CNPAF. Documentos, 46).

AMBROSANO, E. J.; TRIVELIN, P. C. O.; MURAOKA, T. Técnica para marcação dos adubos verdes crotalária júncea e mucuna-preta com ^{15}N para estudos de dinâmica do nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v. 56, n. 1, 1997. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000687051997000100023&ln=en&nrm=iso>. Acesso em 19 out. 2011.

AMBROSANO, E. J.; TRIVELIN, P. C. O.; CANTARELLA, H. C.; ROSSETTO, R.; MURAOKA, T.; BENDASSOLLI, J. A.; AMBROSANO, G. M. B.; TAMISO, L. G.; VIEIRA, F. C.; PRADA NETO, I. Nitrogen- 15 labeling of *Crotalaria juncea* green manure. **Scientia Agricola**, v. 60, p. 181-184, 2003.

ARAÚJO, E. S.; GUERRA, J. G. M.; ESPINDOLA, J. A. A.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M.; MARTELLETO, L. A. P.; ALVES, B. J. R. Recuperação no sistema solo-planta de nitrogênio derivado da adubação verde aplicada à cultura do repolho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira Online**, v. 46, p. 729-735, 2011. Disponível em: <<http://webnotes.sct.embrapa.br/pdf/pab2011/07/46n07a08.pdf>> Acesso em 18 dez. 2011.

CUETO-WONG, J. A.; GULDAN, S. J.; LINDEMANN, W. C.; REMMENA, M. D. Nitrogen recovery from ^{15}N -labeled green manures: I. recovery by forage sorghum and soil one season after green manure incorporation. **Journal of Sustainable Agriculture**, v. 17, p. 27-42, 2001.

FRANCO, A. A.; DÖBEREINER, J. Especificidade de hospedeiro na simbiose com Rhizobio - Feijão e influência de diferentes nutrientes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 2, p. 467-474, 1967.

LIMA, A. S.; PEREIRA, J. P. A. R.; MOREIRA, F. M. S. Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. de solos da Amazônia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 11, p. 1095-1104, 2005.

RAMOS, M. G.; VILLATORO, M. A. A.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Quantification of the contribution of biological nitrogen fixation to tropical green manure crops and the residual benefit to a subsequent maize crop using ^{15}N -isotope techniques. **Journal of Biotechnology**, v. 91, p. 105-115, 2001.

URQUIAGA, S.; ZAPATA, F. **Manejo eficiente de la fertilización nitrogenada de cultivos anuales en América Latina y el Caribe**. Porto Alegre: Genesis; Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 2000. 110 p.

Embrapa

Agrobiologia

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PAÍS RICO É PAÍS SEM POBREZA