

**DECOMPOSIÇÃO DA VINHAÇA INCORPORADA AO
SOLO (EVOLUÇÃO DE CO₂ E FORMAÇÃO DE BIOMASSA MICROBIANA)
E DESTINO DA COMPLEMENTAÇÃO NITROGENADA**

MARLI TEIXEIRA DE ALMEIDA

Orientador: CARLOS CLEMENTE CERRI

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura «Luiz de Queiroz», da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração: Microbiologia Agrícola.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Junho de 1983

A meu pais

Antonio (*in memoriam*)

e Maria

MINHA HOMENAGEM

AGRADECIMENTOS

A autora expressa seus agradecimentos:

- Ao Professor Dr. Carlos Clemente Cerri, pela orientação, estímulo e amizade.

- Às Diretorias da Faculdade de Engenharia, "Campus" de Ilha Solteira, e da Faculdade de Ciências Agronômicas, "Campus" de Botucatu, UNESP, pelas facilidades apresentadas.

- À Coordenadoria do Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola pelos recursos de bolsa de estudos concedidos pela CAPES.

- Ao Professor Dr. Reynaldo Victoria, pelo inestimável apoio, colaboração e facilidades proporcionadas na metodologia do nitrogênio.

- Aos Professores do Curso de Pós-Graduação, em especial ao Dr. Paulo de Campos Torres de Carvalho, Dra. Elke Jurandir Bryan Nogueira Cardoso e Dr. Hiroshi Kimati, pelos ensinamentos e amizade.

- Ao Professor Dr. Augusto Ferreira da Eira, pela atenção e incentivo constantes, e pela revisão dos originais.

- Aos Professores do Departamento de Defesa Fitossanitária da Faculdade de Ciências Agronômicas, "Campus" de Botucatu, UNESP, pelo apoio e colaboração.

- Às Sessões de Radioquímica, Entomologia e Hidrologia do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, pelos serviços prestados.

- Aos funcionários do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Sra. Sandra Nicolete, Sr. Dacir Bortoleto e

Sr. José Admir Rodrigues, pela colaboração prestada.

- Aos colegas pós-graduandos, pela amizade, apoio e convívio inesquecíveis.

- À Srta. Rita de Cássia Colombara e à Sra. Vera Lúcia da Silva Mendes, pelos serviços de datilografia.

- E a todos que, direta e indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	Página
1. RESUMO	1
2. INTRODUÇÃO	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. A VINHAÇA E SUAS CARACTERÍSTICAS	5
3.2. UTILIZAÇÃO DA VINHAÇA	6
3.3. DECOMPOSIÇÃO DE MATERIAIS ORGÂNICOS ADICIONA- DOS AO SOLO	7
3.4. AUMENTO DA BIOMASSA MICROBIANA NO SOLO	12
3.5. TRANSFORMAÇÕES DO NITROGÊNIO AMONÍACAL NO SOLO	16
3.5.1. Imobilização microbiana	16
3.5.2. Nitrificação	16
3.5.3. Desnitrificação	17
4. MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1. MATERIAIS	21
4.1.1. Solo	21
4.1.2. Vinhaça	21
4.1.3. Complementação nitrogenada	22
4.2. MÉTODOS	22
4.2.1. Instalação do experimento	22
4.2.2. Preparo dos frascos com solo	23
4.2.3. Incubação	24
4.2.4. Carbono	24
4.2.4.1. Evoluido do solo	24
4.2.4.2. No solo	26
4.2.5. Biomassa Microbiana	26

	Página
4.2.6. Nitrogênio	28
4.2.6.1. $^{15}\text{N}_2$ desprendido do solo	28
4.2.6.2. Formas do ^{15}N no solo	29
- N-mineral no solo	30
- N-orgânico no solo	31
- Cálculo do N-NH_4^+ , N-NO_3^- e N-Norgânico	32
4.2.7. pH do solo	32
4.2.8. Métodos Estatísticos	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1. CARBONO EVOLUIDO	33
5.1.1. Solo sem incorporação de vinhaça	34
5.1.1.1. Taxa diária média de evolução de carbono	34
5.1.1.2. Quantidade total de carbono evoluido	35
5.1.2. Solo com vinhaça	35
5.1.2.1. Taxa diária média de evolução de carbono	35
5.1.2.2. Quantidade total de carbono evoluido	38
5.2. BIOMASSA MICROBIANA	42
5.2.1. Solo sem incorporação de vinhaça	42
5.2.2. Solo com vinhaça	43
5.2.3. Biomassa microbiana nos períodos ini- ciais de incubação	46
5.3. DISTRIBUIÇÃO RELATIVA DO CARBONO E DECOMPOSI- ÇÃO DA VINHAÇA	49
5.3.1. Distribuição relativa do carbono nos tratamentos com vinhaça	50
5.3.2. Decomposição da vinhaça incorporada ao solo	50

5.4. DESTINO DA COMPLEMENTAÇÃO NITROGENADA	55
5.4.1. Variações no teor do $^{15}\text{N}_{\text{total}}$	55
5.4.2. Variações no teor do $^{15}\text{NH}_4^+\text{pf}$	55
5.4.3. Outras formas de N, decorrentes da transformação do $^{15}\text{NH}_4^+\text{pf}$ incorporada ao solo	57
5.4.3.1. $^{15}\text{N}_{\text{org}}\text{pf}$	57
5.4.3.2. $^{15}\text{NO}_3^-\text{pf}$	58
5.4.3.3. $^{15}\text{N}_2\text{pf}$	59
5.4.4. Distribuição relativa do ^{15}N no solo - com vinhaça	59
5.4.5. Balanço do ^{15}N no solo	61
5.5. RELAÇÃO CARBONO-NITROGÊNIO NO PROCESSO DE DE- COMPOSIÇÃO DA VINHAÇA NO SOLO	63
6. CONCLUSÃO	65
7. SUMMARY	67
8. LITERATURA CITADA	69

1. RESUMO

Estudou-se e comparou-se, sob condições de laboratório, a decomposição de vinhaça incorporada à razão de $200 \text{ m}^3/\text{ha}$ a um Latossolo Vermelho amarelo-fase arenosa, mantido a 40, 60 e 80% da capacidade de retenção de água, em termos de CO_2 evoluído e de biomassa microbiana formada. Acompanhou-se também, as transformações microbiológicas pelas quais passa a complementação nitrogenada, enriquecida em ^{15}N . A incubação deu-se no escuro, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, durante um período de três meses.

O CO_2 evoluído foi periodicamente avaliado por retenção em NaOH , seguida de titulometria com HCl .

A biomassa microbiana foi determinada através de uma variação do método proposto por JENKINSON e POWLSON (1976), utilizando-se a radiação gama como agente biocida.

O desprendimento de gases de ^{15}N foi avaliado em espectrômetro de massa; o N mineral por extração com KCl , seguida de destilação com MgO e Liga de Devarda, e titulação com NaOH ; o N orgânico foi determinado através do método de Kjeldahl, descrito por BREMNER (1965). O enriquecimento em ^{15}N das formas minerais e orgânica de nitrogênio foi analisado em espectrômetro de massa, segundo o método de Rittemberg, descrito por TRIVELIN *et alii* (1973).

Nestas condições experimentais, e de acordo com a metodologia adotada, observou-se que a umidade do solo, na medida em que afetou o nível de O_2 , condicionou a decomposição da vinhaça, tanto em termos de evolução de CO_2 como de formação de biomassa microbiana. Porém, ao final de três meses de incubação, praticamente toda a vinhaça foi decomposta em todos os tratamentos. Neste processo, $2/3$ do carbono orgânico incorporado foi mineralizado para CO_2 e menos de $1/3$ foi imobilizado para biomassa microbiana.

A quantidade de nitrogênio complementar pode ser considerada excessiva uma vez que ao final do período de incubação, praticamente inexistia vinhaça no solo, enquanto que restavam $2/3$ da complementação nitrogenada.

2. INTRODUÇÃO

Na agroindústria canavieira produtora de álcool, a vinhaça é o resíduo líquido produzido à razão de 12,5 : 1 litro de álcool (RODELLA e FERRARI, 1977).

Com o crescente aumento da produção alcoólica no país, o volume total desse resíduo certamente aumentará e exigirá um manejo adequado, considerando-se a impossibilidade de uma estocagem total.

A vinhaça não pode ser lançada aos rios uma vez que possui elevada carga poluidora em termos de Demanda Bioquímica de Oxigênio e, desde a década de 1950, já se salientava sobre os efeitos de sua descarga em águas, causando morte de organismos e mau cheiro devidos, principalmente, a depleção do oxigênio dissolvido e putrefação da matéria orgânica coloidal.

Em decorrência dos problemas de ordem ecológica e social advindos da descarga do resíduo em rios, a solução mais plausível para sua disposição, tem sido a aplicação no solo canavieiro.

Ademais, a aplicação no solo canavieiro tem recebido muita ênfase devido ao retorno de nutrientes para o sistema solo-planta, desde que a vinhaça é rica em nutrientes exigidos pela cultura.

Porém, tal aplicação requer estudos que orientem o manejo, resultando num melhor aproveitamento do resíduo pela planta bem como a manutenção ou restauração da fertilidade do solo.

Considerando-se que teores diferentes de oxigênio no solo, decorrentes do nível de umidade e/ou de aplicações excessivas de um resíduo orgânico, podem alterar a quantidade de biomassa microbiana formada e conseqüentemente a decomposição do resíduo aplicado ao solo, o presente trabalho tem por objetivos: acompanhar a decomposição do resíduo incorporado ao solo, em termos de evolução de CO_2 e formação de biomassa microbiana, em função da umidade e do período de incubação; confrontar a mineralização e a formação de biomassa microbiana, avaliando a participação relativa de cada uma no processo de decomposição como um todo; acompanhar a dinâmica da complementação nitrogenada, discutindo as possíveis reações microbiológicas envolvidas e relacionar a decomposição do carbono orgânico com a complementação nitrogenada.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. A VINHAÇA E SUAS CARACTERÍSTICAS

A composição da vinhaça é variável (Quadro 1) e dependente principalmente da composição do mosto submetido a destilação, do método de fermentação adotado, da raça da levedura utilizada e outros (ALMEIDA, 1952).

Quadro 1 - Composição química média de diferentes tipos de vinhaça, em função da matéria prima (ORLANDO, F^o *et alii*, 1980).

Elemento Kg/m ³	Mosto		
	Melaço	Misto	Caldo
N	0,85	0,54	0,31
P ₂ O ₅	0,15	0,14	0,13
K ₂ O	5,75	3,52	1,21
CaO	2,57	1,50	0,53
MgO	1,00	0,60	0,24
C	15,87	12,10	7,23

Apesar das diferenças na constituição, as vinhaças apresentam-se, de modo geral, com elevado teor de car-

bono, em forma de matéria orgânica coloidal, resultando numa DBO de cerca de 15-20 g O₂/litro (VAZ *et alii*, 1980), e com pH oscilando entre 3,7 a 5,9 (ALMEIDA, 1952).

3.2. UTILIZAÇÃO DA VINHAÇA.

São muitas as alternativas para a vinhaça. SHEEHAN e GREENFIELD (1980), analisando o problema da vinhaça e as várias técnicas até então experimentadas para a sua disposição, comentam a reciclagem, aplicação direta ao solo, evaporação, produção de biomassa e produtos bioquímicos, utilização como suplemento alimentar, tratamentos físico químicos e biológicos.

Apesar dessas inúmeras alternativas, a aplicação ao solo é a que predomina e este fato pode estar intimamente relacionado aos comentários de BOUWER e CHANEY (1974) e de TERRY *et alii* (1979a), de que a disposição de resíduos orgânicos líquidos em solos não é apenas um meio de não poluir águas, mas também implica na reciclagem de poluentes que se tornam nutrientes para as plantas, além de outros aspectos favoráveis tais como a segurança, simplicidade e os baixos requerimentos energéticos, em contraste com a complexa tecnologia dos avançados sistemas de tratamento,

E foi na década de 1950 e 1960 que começaram as primeiras pesquisas sobre aplicação de vinhaça ao solo, quando então, observou-se efeitos benéficos sobre o sistema solo-planta. Dentre estes, (1) a elevação do pH do solo (ALMEIDA, 1952; CAMARGO, 1954 e CALDAS, 1960), (2) a melhoria das propriedades físicas e químicas do solo (ALMEIDA, 1952), (3) o aumento do poder de embebição para a água (ALMEIDA, 1952), (4) maior retenção de sais minerais (ALMEIDA, 1952), (5) ótimas condições para o desenvolvimento da cana (ALMEIDA, 1952), (6) restauração, conservação e aumento da fertilidade

do solo (ALMEIDA, 1952; CAMARGO, 1954 e CALDAS, 1960).

A partir dessas décadas, aumentaram-se os estudos sobre aplicação de vinhaça ao solo, buscando dados que favoreçam um melhor aproveitamento do resíduo como fertilizante.

Porém, tais estudos enfocam, principalmente, o efeito da aplicação do resíduo sobre a produtividade da cultura, pouco se referindo ao solo propriamente dito ou aos processos microbiológicos aí envolvidos.

3.3. DECOMPOSIÇÃO DE MATERIAIS ORGÂNICOS ADICIONADOS AO SOLO.

Quando um material orgânico é adicionado ao solo, os microrganismos heterotróficos ali presentes promovem, através de reações de oxidação, a decomposição deste material. Através destas reações, os microrganismos obtêm carbono e energia para suas funções celulares (WINSOR e POLLARD, 1956; COCHRANE, 1958; ALEXANDER, 1967).

A velocidade e eficácia dessa decomposição, depende de uma série de fatores relacionados com a composição química e quantidade do substrato, e com as características físico-químicas do solo, incluindo as condições climáticas (ALEXANDER, 1967; PARR, 1975).

Dentre os fatores do substrato citam-se a composição química, sua relação C/N, seu conteúdo em lignina, tamanho ou estado de subdivisão das partículas, natureza da microflora e DBO. Entre os fatores do solo pode-se incluir a temperatura, fornecimento de oxigênio, umidade, pH, disponibilidade de nutrientes, textura, estrutura e mineralogia do solo (EVANS, 1973 e PARR, 1975).

Os resíduos orgânicos, e dentre eles pode-se colocar a vinhaça, variam muito em composição, mas de modo ge

ral, possuem elevados teores de materiais carbonáceos. Quando da assimilação desse carbono para síntese e metabolismo celular, ocorre uma concomitante assimilação de outros elementos também importantes para o crescimento celular, tais como o nitrogênio, fósforo, potássio e enxôfre, especialmente, e que podem ou não estar presentes no resíduo, em níveis satisfatórios. A assimilação de tais nutrientes adicionais poderá ter uma grande significação prática porque, se o resíduo não os contiver em teores satisfatórios para a decomposição microbiana, ocorrerá uma imobilização a partir do solo, reduzindo assim, a disponibilidade deles para as plantas (ALEXANDER, 1967).

Assim sendo, a velocidade de decomposição é comumente relacionada com a relação C/N, de tal forma que, residuos com baixa relação C/N decompõem-se mais rãpidamente que resíduos com elevada relação C/N e, neste último caso, há necessidade de uma complementação para se estimular a decomposição e/ou suprir as necessidades da planta (ALEXANDER, 1967).

Porém, durante a decomposição, essa relação - C/N diminui (ALEXANDER, 1967) e isso ocorre porque, no metabolismo microbiano, parte do carbono é perdido na forma de gás carbônico. E, uma das técnicas comumente utilizadas para se estimar a velocidade e taxa de decomposição de um material orgânico adicionado ao solo, é justamente a medida dessa evolução de CO₂.

Quanto à essa evolução de CO₂, WAKSMAN (1963) comenta que a quantidade total liberada depende da natureza - do material, dos microrganismos envolvidos e das condições de decomposição.

O teor carbonáceo, além de condicionar a decomposição de um resíduo orgânico através da relação C/N, condiciona-a também, através da Demanda Bioquímica de Oxigênio que acarreta. Considerando-se que a DBO é a quantidade de oxigênio molecular, expressa em mg/l, necessária para estabilizar

o resíduo líquido, com a ajuda de microrganismos e num período de 5 dias a 20°C (SILVA, 1977), resíduos com DBO elevada podem criar condições de anaerobiose nos solos, em virtude de um "déficit" na concentração de O₂ dissolvido, quando forem aplicados em doses que excedam a capacidade de reoxigenação dos solos (BOUWER e CHANEY, 1974; PARR, 1975).

São condições redutoras que podem ocorrer também devido ao encharcamento do solo, sendo que, ALEXANDER (1967) e PARR (1975) consideram que existe uma grande semelhança nos processos bioquímicos que caracterizam solos anaeróbicos devido ao encharcamento ou à adição de resíduo orgânico com elevada DBO.

Nestas condições, ocorrem alterações significativas no metabolismo microbiano, de tal modo que a decomposição torna-se mais lenta e menos eficaz, porque resulta na produção de compostos ricos em carbono e energia, com consequente queda no despreendimento de CO₂, característico de biooxidações anaeróbicas (PONNAMPERUMA, 1972).

PARR (1975) e KOWALIK *et alii* (1979) recomendam que, para tais resíduos, deve-se aplicar doses que permitam a manutenção de um balanço adequado do nível de O₂ no solo, permitindo assim, uma decomposição contínua e efetiva do material, evitando condições redutoras prolongadas tal como pode ser observado na Figura 1.

Embora o oxigênio molecular seja um elemento fundamental para a rápida decomposição, BROADBENT e BARTHOLOMEW (1948) não puderam explicar a lenta decomposição de grandes quantidades de palha de aveia com base num inadequado fornecimento de O₂ ou deficiências em N e P.

Ainda com relação a um déficit de O₂ devido a uma elevada DBO, AGBIM *et alii* (1971), trabalhando com resíduo composto de cortiça e lodo de esgoto, observaram menor evolução de CO₂ quando aumentaram a porcentagem de lodo em re

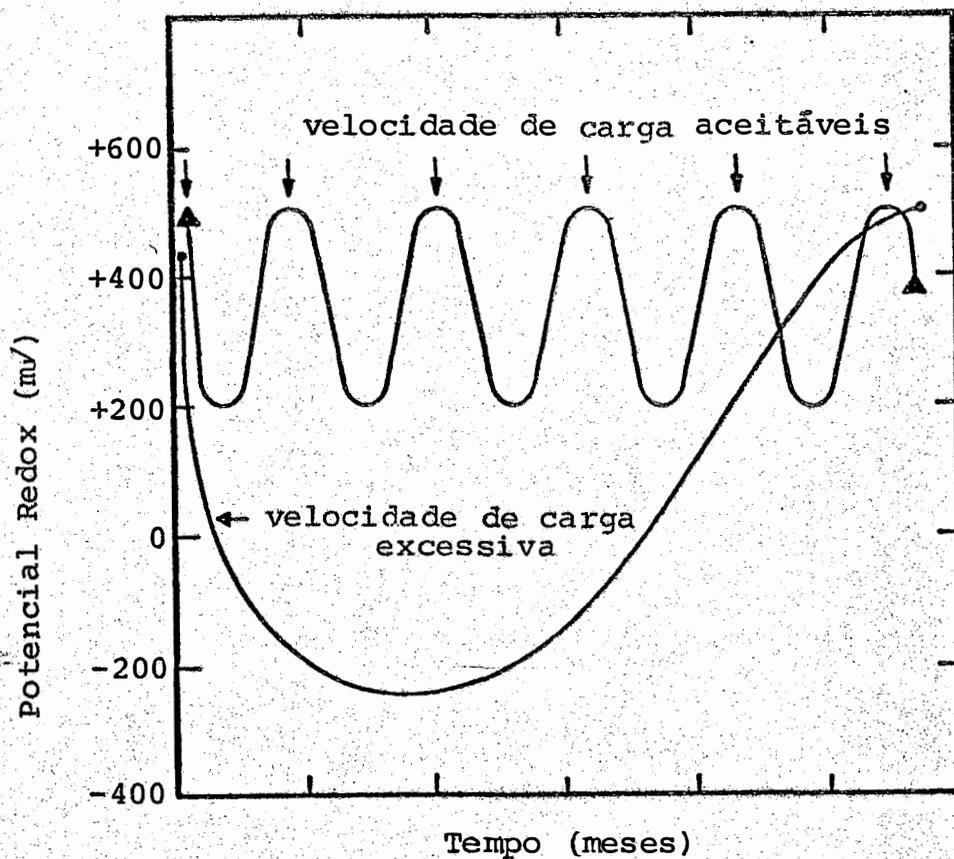


Figura 1 - Ilustração hipotética dos efeitos relativos à aplicação sucessivas e frequentes de doses aceitáveis, comparados a uma única aplicação excessiva de um resíduo com elevada DBO (PARR, 1975).

lação à de cortiça, devido à diminuição do nível de O_2 em função do aumento da DBO da mistura.

A água, além de diminuir o teor de O_2 devido ao encharcamento como consideraram ALEXANDER (1967) e PARR (1975), pode ter também, uma atuação direta sobre a população microbiana do solo (ALEXANDER, 1967).

Outro fator condicionador da decomposição é a temperatura. ALEXANDER (1967) relata que a mineralização do carbono é mais lenta a baixas temperaturas e que o aquecimento está associado com um maior desprendimento de CO_2 . PARR (1975) considera a faixa de $30-35^{\circ}C$ como sendo a de máxima velocidade de decomposição de materiais orgânicos de modo geral.

Com relação aos demais fatores condicionadores da decomposição, TERRY *et alii* (1979b) verificaram que a textura, pH e mesmo a umidade, tiveram pouco efeito nas velocidades de decomposição de lodo de esgoto em solo. Mas, quanto ao modo de aplicação e à temperatura, obtiveram uma maior decomposição quando a aplicação era superficial ou quando a temperatura era de $30^{\circ}C$, em comparação à incorporação ou quando a temperatura era de $21^{\circ}C$.

Embora o estado de subdivisão das partículas do resíduo seja também um fator condicionador da sua decomposição, ALISSON e COVER (1960), medindo a decomposição de serragem em termos de CO_2 evoluído, encontraram que a velocidade e taxa da decomposição foram as mesmas, independentemente do tamanho das partículas.

Ainda com relação à umidade e temperatura, ZBORISHCHUK (1979) acompanhou a flutuação anual de evolução de CO_2 em solo irrigado e não irrigado. A evolução de CO_2 teve seu máximo nos meses de junho-julho, quando a temperatura e umidade eram favoráveis à decomposição microbiana, e foi maior para as parcelas irrigadas. Porém, esse máximo de evolução de CO_2 para as parcelas irrigadas foi ainda maior nos primeiros

anos de irrigação sucessiva que quando após 12-14 anos de irrigação sucessiva.

3.4. MEDIDA DA BIOMASSA MICROBIANA NO SOLO

A decomposição de um resíduo orgânico no solo pode ser caracterizada através do CO_2 evoluído durante o processo, como dito anteriormente, mas pode, também, ser caracterizada pelo aumento da biomassa microbiana no solo, desde que no processo de decomposição, os microrganismos obtêm tanto energia quanto carbono para síntese celular (ALEXANDER, 1967).

E esse aumento em biomassa microbiana pode ser medido direta ou indiretamente. Os métodos diretos gerais incluem a contagem total de microrganismos ao microscópio óptico, contagem de células viáveis e as lâminas de Rossy-Cholodny (JOHNSON *et alii*, 1959). Entre os métodos indiretos, pode-se incluir aquele proposto por JENKINSON e POWLSON (1976) para o cálculo da biomassa microbiana, baseado na evolução de CO_2 do solo. É um método recente que está se tornando conhecido e aplicado por alguns pesquisadores e foi o adotado no presente experimento, muito embora a evolução de CO_2 do solo nem sempre se correlaciona com o número de microrganismos ou com a intensidade dos processos bioquímicos do solo (IMSHENETSKII e MURZAKOV, 1979).

O método proposto por JENKINSON e POWLSON (1976) fundamenta-se no aumento de decomposição do carbono orgânico, em decorrência de tratamentos biocidas e, embora existam várias teorias que poderiam explicar tal aumento, JENKINSON (1966) concluiu que ele é devido, na sua maior parte, à decomposição de organismos mortos pelo agente biocida. Sendo assim, propôs que esse aumento poderia ser usado como uma medida aproximada da biomassa microbiana do solo, através da relação $B = F/K$, que será posteriormente descrita no item 4.2.5. do capítulo Materiais e Métodos.

Como agentes biocidas, POWLSON e JENKINSON (1976) estudaram os efeitos da fumigação com clorofórmio e brometo de metila, radiação gama, autoclavagem e secagem ao ar, sobre o metabolismo microbiano. Porém, na metodologia proposta, utilizam-se da fumigação com clorofórmio.

Segundo JENKINSON (1976), para o cálculo da biomassa microbiana, é necessário determinar-se um valor para o fator K, que representa a fração do carbono da biomassa morta que é decomposta para CO₂, durante os dias de incubação adotados.

Esse fator K é imprescindível, desde que nem todo o carbono da biomassa morta é mineralizado para CO₂ nos dias de incubação adotados; parte dele não será atacada e parte será incorporada nos organismos responsáveis pelo fluxo. Ademais, ele varia com a espécie microbiana, pH e aeração do solo (JENKINSON, 1966).

Na determinação de um valor para K, JENKINSON (1976) trabalhou com duas amostras de solo, uma com adição de carbono celular e outra sem adição de carbono celular; fumigou com clorofórmio e considerou a diferença em evolução de CO₂ como sendo a quantidade de carbono celular decomposta para CO₂, durante o período de incubação de 10 dias. Nesta determinação, considerou nulo o efeito *priming*.

A fração de carbono celular mineralizada nos 10 dias de incubação foi semelhante para os diferentes organismos usados, situando-se entre 49 a 60% do carbono celular inicialmente adicionado, o que deu um valor médio para K de 0,50.

SHIELDS *et alii* (1974), confirmam o conceito de JENKINSON (1966) de que tratamentos com clorofórmio torna suscetível à decomposição, carbono da biomassa normalmente resistente, porém, consideram que muito do ¹⁴C adicionado ao solo deva persistir como produtos de quebra microbianos não

identificáveis, até que tratamentos físicos ou o clorofórmio torne-os suscetíveis ao ataque.

Mas, ANDERSON e DOMSCH (1978), verificando se vapores de clorofórmio alteravam metabólitos microbianos estabilizados ou células microbianas mortas de tal modo a torná-los mais suscetíveis à degradação, encontraram que ambos materiais fúngicos mortos, fumigados e não fumigados, mineralizaram-se sob mesma extensão no solo, durante os 10 dias de incubação.

Estes mesmos autores, trabalhando com 15 espécies fúngicas e 12 espécies bacterianas, todas marcadas com ^{14}C , determinaram um valor para K igual a 0,41.

Comparando-se os trabalhos de JENKINSON (1976) e de ANDERSON e DOMSCH (1978), pode-se deduzir que os últimos foram mais precisos na obtenção de um valor médio para a constante K, desde que trabalharam com maior número de espécies bacterianas e fúngicas, isoladas de 4 solos diferentes e cultivadas em meio de cultura com ^{14}C - glicose como fonte de carbono antes da incorporação aos 4 solos. O uso de uma biomassa marcada com ^{14}C permite a separação do $^{14}\text{CO}_2$ e de qualquer $^{12}\text{CO}_2$ evoluído, eliminando assim, qualquer possível efeito *priming* positivo do carbono nativo, que JENKINSON (1976) considerou nulo, quando na determinação do fator K; talvez seja esta a razão de um K maior, 0,50,

Quanto ao chamado efeito *priming*, definido por JENKINSON (1971) como a mudança na velocidade de decomposição da matéria orgânica nativa do solo, causada pela adição de matéria orgânica fresca, TERRY *et alii* (1979a) encontraram que a degradação da matéria orgânica nativa situou-se próxima de 100% durante 336 dias de incubação, após adição de esgoto orgânico sintético, com ^{14}C .

Ainda neste item referente à leitura da biomassa microbiana, torna-se necessário apresentar uma breve revi-

são sobre os efeitos da radiação gama sobre o solo, desde que foi o agente biocida utilizado no presente trabalho considerando-se que a defumigação no solo mantido a 80% da capacidade de retenção de água não foi completa.

A radiação parece não afetar a capacidade de troca catiônica, a distribuição do tamanho das partículas e as propriedades de desorção de umidade, como a autoclavagem afeta (Eno e Popenoe, 1964, citados por McLAREN, 1969).

Por outro lado, POWLSON e JENKINSON (1976), estudando o aumento na decomposição do carbono após vários tratamentos biocidas, encontraram que o processo de autoclavagem rendia mais CO_2 que a radiação; porém, isto pode ser devido ao efeito da elevada temperatura que o processo atinge, tornando decomponível carbono orgânico não celular (JENKINSON, 1966) e solubilizando mais material orgânico.

A radiação foi tida como o processo mais apropriado na obtenção de solo quimicamente inalterado, para estudos nutricionais de sistemas radiculares estéreis, em virtude do fato de substratos orgânicos sensíveis à radiação, como por exemplo a urease, não terem sido destruídos pelo processo, em comparação à sua destruição por autoclavagem (McLAREN, 1969).

Peterson (1962a), citado por McLAREN (1969), concluiu que solo elétron-esterilizado é um meio mais "natural" para o cultivo de microrganismos do solo que solo esterilizado pelo calor, considerando-se que o crescimento de *Pseudomonas sp* e *Arthrobacter sp* apresentou-se reduzido e com uma lag-fase em solo autoclavado, em comparação ao crescimento logarítmico e sem lag-fase em solo esterilizado por radiação.

Porém, apesar desses aspectos favoráveis, a radiação no presente experimento parece ter alterado alguma função ou propriedade do solo incorporado com vinhaça, como será discutido no capítulo Resultados e Discussão.

3.5. TRANSFORMAÇÕES DO NITROGÊNIO AMONICAL NO SOLO

Quando adicionamos um fertilizante nitrogenado ao solo, ele fica sujeito a uma série de mudanças devido a processos físicos, químicos e biológicos que tomam parte neste solo (POMARES-GARCIA e PRATT, 1978).

Para o estudo das transformações que ocorrem com o fertilizante nitrogenado no solo há necessidade de se trabalhar com ^{15}N como elemento traçador para uma interpretação correta dos dados obtidos.

CHENG e KURTZ (1963) relatam que até o ano de 1963, pouca informação era dada sobre as transformações e distribuição do N adicionado ao solo e que com o advento das técnicas isotópicas usando o ^{15}N como traçador, tornou-se possível a diferenciação entre o N adicionado e o N nativo do solo.

3.5.1. Imobilização microbiana

O N amoniacal no solo pode ser imobilizado por microrganismos, como consequência da sua incorporação em moléculas proteicas, ácidos nucleicos e outros complexos orgânicos contidos nas células microbianas (ALEXANDER, 1967). Os microrganismos não podem multiplicar-se e nem a matéria orgânica pode ser decomposta sem que o N seja assimilado em protoplasma microbiano, e essa assimilação toma lugar desde que haja atividade microbiana.

3.5.2. Nitrificação

O N amoniacal, além da imobilização pelos microrganismos heterotróficos, é usado como substrato oxidável por um grupo de quimiolitotróficos que, promovendo a sua oxidação, obtém energia para seu metabolismo e cofatores reduzidos para assimilação de carbono a partir de CO_2 . É caracterís

tico de bactérias do gênero *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, especialmente, e é denominado nitrificação (ALEEM, 1970).

Nitrosomonas oxida íons amônio a nitrito e *Nitrobacter* oxida íons nitrito a nitrato (SUZUKI, 1974).

São bactérias estritamente aeróbicas e como consequência a nitrificação pode ocorrer somente onde o solo está suficientemente bem arejado para permitir a atividade destas bactérias (CAMPBELL e LEES, 1967).

A oxidação dos íons amônio é afetada com o pH, aeração, umidade, temperatura (ALEXANDER, 1967) e relação C/N do resíduo em decomposição no solo (MALAVOLTA, 1976).

Quanto à acidez do meio, os dois organismos responsáveis aparentemente são bem ativos somente em solos com pH próximo ao neutro ou ligeiramente alcalino (CAMPBELL e LEES, 1967). Em ambientes ácidos, a nitrificação processa-se lentamente mesmo na presença de um fornecimento adequado de substrato, e as espécies responsáveis são raras ou totalmente ausentes em grandes acidez (ALEXANDER, 1967).

Considerando-se que *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* são aeróbicas obrigatórias, nos solos onde o fornecimento de O_2 é inadequado, haverá pouca oxidação de amônia e, na total ausência de O_2 , o processo cessa (ALEXANDER, 1967).

A umidade, na medida em que altera o regime de aeração do solo, afeta a nitrificação (ALEXANDER, 1967).

A nitrificação é marcadamente afetada pela temperatura, e segundo ALEXANDER (1967), muitos trabalhos tem confirmado o fato de que abaixo de $5^{\circ}C$ e acima de $40^{\circ}C$ a velocidade é muito lenta. A temperatura ótima situando-se entre 30 e $35^{\circ}C$.

3.5.3. Desnitrificação

O nitrato formado presente no solo poderá, por sua vez, sofrer dois processos microbiológicos (a) uma redução assimilatória a nível de íon amoniacal que será incorporado à célula microbiana e (b) uma redução desassimilatória a nível de gases voláteis de N, que são perdidos (CAMPBELL e LEES, 1967).

A redução assimilatória parece ser da capacidade de todos os microrganismos; porém, a habilidade de desnitrificar é restrita a poucas espécies onde a maioria é facultativa no sentido de que sob condições aeróbicas usam o O_2 como aceptor de elétrons, enquanto que na falta do O_2 , usam o nitrato, reduzindo-o (DELWICHE e BRYAN, 1976).

Dentre os fatores que governam a desnitrificação tem-se o oxigênio, carbono orgânico, pH, umidade e temperatura (ALEXANDER, 1967; DELWICHE e BRYAN, 1976; KNOWLES, 1982).

O mecanismo pelo qual o oxigênio afeta a redução desassimilatória do nitrato não é bem entendida (DELWICHE e BRYAN, 1976), mas parece que a enzima responsável, a redutase do nitrato, é reprimida pelo oxigênio, possivelmente devido à competição por elétrons (KNOWLES, 1982).

Sendo assim, é fácil entender que o processo deve ocorrer em condições anaeróbicas ou em condições nas quais a desnitrificação é o processo preferido ou, pelo menos, uma sequência metabólica competitiva (DELWICHE e BRYAN, 1976).

Porém, quando se refere à desnitrificação, é necessário discutir-se alguns casos particulares como se segue.

Em solos encharcados, a perda de nitrogênio - por desnitrificação pode ocorrer mesmo quando o fertilizante aplicado for amoniacal.

O fertilizante amoniacal presente na camada su

perior aeróbica pode ser oxidado a nitrato que, movendo-se para a camada inferior, anaeróbica, pode ser desnitrificado (REDDY *et alii*, 1980). A existência dessas duas camadas foi observada por REDDY *et alii* (1980), PATRICK e GOTOH (1974), REDDY e PATRICK (1977) e REDDY e PATRICK (1980).

Quanto à dimensão dessas camadas, PATRICK e GOTOH (1974) encontraram que a espessura da camada aeróbica, oxidada, é governada pelo teor de O_2 no ar superior ao solo, e que as perdas ocorrem mesmo com baixos teores de O_2 , tais como 5 e 10%.

Porém, a perda de N é menor quando o fertilizante amoniacal é aplicado na camada anaeróbica do solo, em comparação à aplicação na camada aeróbica (REDDY e PATRICK, 1977).

E, quando se manteve a atmosfera superior ao solo isenta de O_2 , não se detectou evolução de gases de N, o que demonstra a necessidade de uma nitrificação do amônio como condição indispensável da desnitrificação (BROADBENT e TUSNEEM, 1971).

Já em solos aeróbicos, Russell (1961) e Greenwood (1962), citados por PONNAMPERUMA (1972), comentam que a desnitrificação do NO_3^- nestes solos, é devida à existência de microsítios anaeróbicos.

Quanto à temperatura do processo, a ótima velocidade de redução ocorre aos $65^\circ C$ (Nommik, 1956, citado por SMID e BEAUCHAMP, 1976).

STANFORD *et alii* (1975), estudando o efeito da temperatura na velocidade de desnitrificação encontrou que na faixa de 15 a $35^\circ C$, o coeficiente de temperatura para o processo, Q_{10} , foi aproximadamente 2; as velocidades de desnitrificação a 35 e $45^\circ C$ foram semelhantes; entre 10 e $5^\circ C$ a velocidade do processo caiu abruptamente e que a menor temperatu-

ra limite conforme o Q_{10} de 2, foi estimada ser 11°C .

KEENEY *et alii* (1979) encontraram que acima de 15°C a velocidade do processo aumentava com a temperatura, - com um ótimo aparente de 60 a 67°C .

O pH do solo afeta profundamente os produtos e a velocidade de desnitrificação. Nommik (1956), Bremner e Shaw (1958b), citados por WICKRAMASINGHE e TALIBUDEEN (1981), encontraram que a máxima desnitrificação ocorreu a pH 7 - 8 e sugeriram que as perdas seriam insignificantes abaixo de pH 5,0.

Quanto à abundância relativa dos gases em função da acidez, ALEXANDER (1967) relata que a liberação de N_2O é pronunciada em ambientes onde o pH está abaixo de 6,0 - 6,5 e que frequentemente pode representar mais da metade dos gases evoluídos de ambientes ácidos. Do mesmo modo, o gás NO só aparece em quantidades significativas quando o pH é baixo. Sob reações neutras ou ligeiramente ácidas, N_2O pode ser o 1º produto gasoso, mas é reduzido microbiologicamente de modo que o N_2 tende a ser o produto dominante em pH acima de 6,0.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

Utilizou-se neste experimento, um solo, uma única dose de vinhaça e uma complementação nitrogenada. As características destes materiais são apresentadas a seguir.

4.1.1. Solo

O solo usado no experimento foi um Latossolo Vermelho amarelo-fase arenosa (RANZANI *et alii*, 1966), coletado na Fazenda Sertãozinho da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz". Para a coleta abriu-se uma pequena trincheira e retirou-se os primeiros 20 cm. A amostra foi seca ao ar e utilizou-se a fração peneirada a 2,00 mm. É um solo ácido (pH = 4,9) com 0,73% de carbono, 0,10% de nitrogênio e 21,1% de argila.

4.1.2. Vinhaça

A vinhaça incorporada ao solo foi fornecida pelo Instituto de Pesquisas Tecnológicas, São Paulo, e correspondente ao processamento de caldo misto.

A análise da composição química elementar da vinhaça apresentou os seguintes resultados:

°Brix	8,75	C/N	21,89
C (%)	12,70	Fe ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	1931,60
N (%)	0,58	Cu ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	5,63
K (Kg/m^3) ...	3,43	Mn ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	116,20
P (Kg/m^3) ...	2,85	Zn ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	76,20
Ca (Kg/m^3) ...	6,62	B ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	1,30
Mg (Kg/m^3) ...	3,98	Na ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	401,50
S (Kg/m^3) ...	0,52	Al ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	100,00
		DQO (mgO_2/ℓ) ...	25400,00

4.1.3. Complementação Nitrogenada

Como complementação nitrogenada utilizou-se sulfato de amônio natural $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e sulfato de amônio com 9,91% de enriquecimento em nitrogênio-15 $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. O uso de sulfato de amônio enriquecido em nitrogênio-15 permitiu-nos acompanhar o destino da complementação no solo.

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Instalação do Experimento

O experimento conduzido em laboratório, consistiu da incubação do solo incorporado com uma única dose de vinhaça complementada com adubação nitrogenada e tendo sua umidade ajustada a diferentes porcentagens da capacidade de retenção de água.

A dose de vinhaça adicionada correspondeu a uma aplicação em campo de $200 \text{ m}^3/\text{ha}$ e, em virtude da elevada relação C/N da vinhaça (22/1), fez-se uma complementação nitrogenada equivalente a $38 \text{ Kg N}/\text{ha}$.

A umidade foi ajustada para 40, 60 e 80% da c. r. a. *.

O experimento assim planejado, possibilitou o

* c. r. a. = capacidade de retenção de água.

acompanhamento da decomposição da vinhaça, em termos de carbono desprendido do solo e de formação da biomassa microbiana, com o decorrer da incubação. Procedeu-se também ao estudo da dinâmica das formas do nitrogênio-15.

4.2.2. Preparo dos frascos com solo

Homogeneizou-se o solo, pesou-se o equivalente a 40g de solo seco a 105°C TFSA e colocou-se em frascos de vidro cilíndricos com 13,2 cm² de área e 10 cm de altura.

Adicionou-se 15 ml de vinhaça, volume que corresponde à aplicação de 200 m³/ha. Homogeneizou-se e levou-se à estufa com circulação forçada de ar e a 45°C para se obter as umidades fixadas em 40, 60 e 80% da c.r.a.

As umidades foram estabelecidas em testes prévios, usando-se método físico de análise em que a partir do volume necessário para trazer 40g de solo seco a 100% da capacidade de retenção de água, calculou-se os volumes necessários para trazer o solo a 80, 60 e 40% da capacidade de retenção de água.

Os frascos foram retirados da estufa, e corrigiu-se os pesos com adição de água destilada. Feito isto, adicionou-se 2 ml de solução aquosa de sulfato de amônio. Cada frasco com solo recebeu 23,6 mg de sulfato natural ou enriquecido, o que corresponde a 5 mg de ¹⁵N e a 38 Kg ¹⁵N/ha. Esse cálculo foi baseado em ensaio preliminar onde observou-se que 4cm de solo foi a profundidade alcançada devido à aplicação de 15 ml de vinhaça (200 m³/ha) no frasco com 13,2 cm² de área contendo 40g de solo seco.

Foram preparados também, frascos com 60% da capacidade de retenção de água, mas que receberam apenas água ao invés de vinhaça e que constituíram-se nos frascos testemunhas. Quanto a complementação, parte destes recebeu sulfato

de amônio natural ou enriquecido e parte não recebeu a complementação.

4.2.3. Incubação

O solo, depois que recebeu o resíduo complementado, foi incubado por um período de 3 meses em caixas de isopor.

Tais caixas continham água destilada na base, para se manter uma atmosfera úmida, e recipientes com NaOH 1N, para absorver o CO₂ liberado, evitando-se assim, um acúmulo deste. Manteve-se as caixas semiabertas para se permitir a ventilação e renovação do ar.

Para cada tempo pré-estabelecido, determinados frascos com solo eram retirados desta incubação principal e submetidos à determinação quantitativa da biomassa microbiana e das formas do ¹⁵N no solo.

As caixas foram colocadas em ambiente escuro, ventilado e a uma temperatura de 25±2°C. A temperatura foi mantida nesta faixa de variação por um sistema de aquecimento.

A umidade dos frascos com solo era periodicamente corrigida com adição de água destilada.

4.2.4. Carbono

4.2.4.1. Evoluído do solo

Dosou-se o carbono evoluído do solo em intervalos de 5 dias durante os primeiros 45 dias de incubação e em intervalos de 10 dias durante os 60 dias consecutivos da incubação.

Para se acompanhar a evolução do carbono nos vários tempos de incubação, utilizou-se 24 frascos com solo

que foram incubados desde o primeiro dia, em jarros de vidro de aproximadamente 3 litros.

Tais jarros de incubação continham cerca de 5 ml de água destilada na base, para se manter a atmosfera úmida e, um frasco de vidro com 20 ml de NaOH 1N, para receber o CO₂ evoluído do solo. Para permitir um ambiente hermeticamente fechado, a boca do jarro era pincelada com silicone e fechada por uma tampa plástica que tinha internamente um disco de borracha.

Estes frascos de incubação eram colocados no mesmo ambiente das caixas de isopor.

Após cada período de incubação abriam-se os frascos e imediatamente dosava-se o carbono absorvido.

Corrigiam-se os pesos dos frascos com solo, adicionando-se água destilada e incubavam-se novamente nos jarros de 3 litros contendo um frasco com outros 20ml de NaOH 1N.

Sempre que se procedia uma incubação, incubava-se também dois jarros de 3 litros contendo apenas os 20 ml de NaOH 1N. Estes jarros constituíram-se nos brancos para a soda.

A distribuição dos frascos com solo para leitura do carbono evoluído do solo é apresentado no Quadro 2.

Quadro 2 - Distribuição dos frascos de solo para leitura do carbono evoluído do solo.

Tratamento	Complementação nitrogenada	Nº de frascos
H ₂ O 60% c.r.a.	Ausente	3
	Presente	3
Vinh 40% c.r.a.	Presente	6
Vinh 60% c.r.a.	Presente	6
Vinh 80% c.r.a.	Presente	6

c.r.a. = capacidade de retenção de água

A determinação do carbono evoluido do solo era feita do seguinte modo: imediatamente após a abertura dos frascos de incubação, o carbonato de sódio formado era precipitado com solução aquosa saturada de cloreto de bário, tampava-se e colocava-se num dessecador contendo na base, cal sodada com indicador. Em seguida dosava-se o carbono, titulando-se a soda com HCl 0,5N; e como indicador da viragem rosa-leitoso para branco-leitoso, 3 gotas de fenolftaleína 1%, eram adicionados. Calculava-se a quantidade de CO₂ evoluido a partir do volume de ácido gasto com o branco, menos o volume requerido pela amostra. Em termos de C evoluido, usava-se a equação:

$$\text{mg C} = (\text{HCl}_{\text{branco}} - \text{HCl}_{\text{parcela}}) \cdot \frac{N_{\text{HCl}}}{N_{\text{NaOH}}} \cdot 6$$

4.2.4.2. No solo

O carbono no solo foi determinado pelo método de via seca, que consiste em queimar a amostra a 950°C em corrente de O₂, para produzir CO₂. O gás carbônico produzido é borbulhado em soda e o procedimento para a dosagem do carbono é o mesmo descrito no item 4.2.4.1.

4.2.5. Biomassa microbiana

Procedeu-se à quantificação da biomassa microbiana do solo no 1º, 5º, 11º, 15º, 33º, 60º e 88º dia de incubação.

Adotou-se uma variação do método de JENKINSON e POWLSON (1976) para a determinação da biomassa microbiana.

Como agente biocida, utilizou-se a irradiação com raios gama, a dose de 25 KGy. A fonte de radiação gama

foi um irradiador de Cobalto-60 tipo Gammabeam 650, com uma atividade de 4.10^{14} Bq (no início do trabalho).

Em cada determinação da biomassa microbiana, trabalhou-se com 32 frascos com solo, retirados da incubação principal; metade deles foi irradiada, inoculada com uma pequena quantidade de solo natural (± 25 mg) e reincubada em jarros de 3 litros, a outra metade foi apenas reincubada nos jarros de 3 litros.

O período de reincubação foi de 14 dias para as quatro primeiras determinações da biomassa microbiana e de 10 dias para as demais.

Cessado cada período de incubação, os frascos eram abertos e dosava-se o carbono.

Incubou-se também, para cada tempo da biomassa microbiana, dois frascos contendo apenas os 20 ml de NaOH 1N que constituíram-se nos brancos para a soda.

A distribuição dos frascos com solo para cada tempo de leitura da biomassa microbiana é apresentada no Quadro 3.

Quadro 3 - Distribuição dos frascos de solo para cada tempo de leitura da biomassa microbiana.

Tratamento	Complementação nitrogranada	Nº de frascos	
		Irradiados	Não Irradiados
H ₂ O 60% c.r.a.	Ausente	2	2
	Presente	2	2
Vinh 40% c.r.a.	Presente	4	4
Vinh 60% c.r.a.	Presente	4	4
Vinh 80% c.r.a.	Presente	4	4

c.r.a. = capacidade de retenção de água.

A equação adotada para o cálculo da biomassa - microbiana foi a mesma proposta por JENKINSON e POWLSON (1976):

$$B = (X - Y) / K$$

onde:

B = Biomassa, em g C/g solo

X = Carbono evoluído do solo irradiado

Y = Carbono evoluído do solo não irradiado

K = 0,41

Porém, o fator K, que representa a fração do C da biomassa mineralizada para CO₂ durante o período de incubação, foi adotado como 0,41, de acordo com os dados obtidos - por ANDERSON e DOMSCH (1978).

4.2.6. Nitrogênio

4.2.6.1. ¹⁵N₂ Desprendido do solo

Para se acompanhar o desprendimento de ¹⁵N₂ do solo, incubou-se 8 frascos de solo cuja complementação nitrogenada tinha 9,91% de enriquecimento em nitrogênio-15.

A distribuição dos frascos de solo está apresentada no Quadro 4.

Quadro 4 - Distribuição dos frascos de solo com (¹⁵NH₄)₂SO₄ - para leitura do ¹⁵N₂ desprendido.

Tratamentos	Número parcelas
H ₂ O 60% c.r.a.	2
Vinh 40% c.r.a.	2
Vinh 60% c.r.a.	2
Vinh 80% c.r.a.	2

c.r.a. = capacidade de retenção de água.

Os frascos de incubação para se acompanhar o $^{15}\text{N}_2$ produzido, tinham capacidade de 1000ml, cerca de 3 ml - de água destilada na base, uma boca pincelada com graxa de silicone e uma tampa de metal com um disco de borracha internamente e com uma perfuração no centro, onde se encaixava uma rolha de borracha.

Externamente, colocou-se um cinturão de massa de calafetar entre a tampa e a rolha e entre o frasco e a tampa, para se garantir uma vedação perfeita.

Procedeu-se a amostragens diárias até o 6º dia de incubação e a partir daí, a intervalos de tempo que variaram de 2 a 5 dias, até completar o período de incubação pré-estabelecido.

Para tanto, retirava-se 3 ml de ar de cada frasco, perfurando-se a borracha com a agulha de uma seringa de 3 ml e levava-se imediatamente à leitura de $^{15}\text{N}_2$ em espectrômetro de massa. Tinha-se uma seringa para cada frasco de incubação.

Para se manter uma atmosfera oxigenada, os jarros eram abertos a cada cinco dias aproximadamente, para renovação de ar.

Quando a renovação de ar coincidia com a leitura do $^{15}\text{N}_2$, procedia-se, em primeiro lugar, a leitura do $^{15}\text{N}_2$.

4.2.6.2. Formas do ^{15}N no solo

Acompanhou-se as formas do nitrogênio amoniacal incorporado ao solo, nos frascos que receberam sulfato de amônio com 9,91% de enriquecimento em nitrogênio-15.

No 1º, 5º, 11º, 15º, 33º, 60º e 88º dia, retirou-se 8 desses frascos das caixas de isopor. Tapou-se e dei-

xou-se por 15 minutos em gelo seco. A seguir, guardou-se em congelador para posterior análise das formas do ^{15}N no solo.

Para tanto, procedeu-se a extração do N mineral usando-se KCl 2N na razão de 2(KCl): 1 (solo).

Colocou-se duas vezes 40 ml de KCl 2N no frasco com 40 gramas de solo e agitou-se manualmente até desfazer-se a coluna de solo.

Transferiu-se para um Erlenmeyer de 250 ml. - Agitou-se, em agitador mecânico, por duas horas e filtrou-se em papel de filtro branco nº 2.

Concentrou-se o filtrado para 40 ml, em estufa à 60°C e reservou-se em geladeira para posterior determinação do N-NO_3^- e N-NH_4^+ .

O papel de filtro com solo foi levado à estufa à 60°C para secar até um peso constante. Moeu-se o solo em almofariz de porcelana para posterior determinação do N orgânico.

Os frascos de solo com ^{15}N , para cada tempo, estão caracterizados no Quadro 5.

Quadro 5 - Frascos de solo com ^{15}N para cada tempo análise das formas de ^{15}N no solo.

Tratamento	Número de parcelas
H_2O 60% c.r.a.	2
Vinh 40% c.r.a.	2
Vinh 60% c.r.a.	2
Vinh 80% c.r.a.	2

c.r.a. = capacidade de retenção de água.

- N-mineral do solo

Submeteu-se os filtrados à análise do N-mineral à medida que iam sendo produzidos.

Procedeu-se a destilação com Óxido de Magnésio (MgO), inicialmente e, depois, com Liga de Devarda.

Com o MgO, volatiliza-se o NH_3 proveniente do íon amoniacal e com Liga de Devarda, o NH_3 proveniente do íon nitrato.

Recebeu-se, cada um dos destilados, em 5 ml de H_2SO_4 0,1N, e titulou-se com NaOH 0,05N em titulador automático acoplado a potenciômetro. O ponto final foi estabelecido - em pH 7,0.

Depois da titulação, acidificou-se as soluções e levou-se à estufa com circulação de ar à 60°C para se reduzir o volume para 2-3 ml e determinar-se, em espectrômetro de massa VARIAN-MAT modelo CH₄, o enriquecimento do N- NO_3 e do N- NH_4^+ em nitrogênio-15, de acordo com o método de Rittenberg, descrito por TRIVELIN *et alii* (1973).

- N-orgânico do solo

Para a determinação do N-orgânico, procedeu-se o método de micro Kjeldahl (BREMNER, 1965).

Daqueles solos filtrados e secos, submeteu-se uma amostra macerada de 2g, à digestão com ácido sulfúrico, - destilação com NaOH e, em seguida, titulação com NaOH, também.

Na digestão sulfúrica, o N-orgânico é oxidado a NH_4^+ . Na destilação alcalina, o NH_3 volatiliza-se e é recebido por 5 ml H_2SO_4 0,1N. A titulação com NaOH 0,05N também tem o ponto final em pH 7,0.

Depois da titulação, acidificou-se as soluções e procedeu-se a determinação do enriquecimento em nitrogênio-15, como dito anteriormente.

- Cálculo do $N-NH_4^+$, $N-NO_3^-$ e N-Norgânico

Considerando-se que 1 meq de H_2SO_4 reage com 1 meq de nitrogênio, a equação para o cálculo do N amoniacal, -nitrico ou orgânico é:

$$\text{mg N} = (V_2 - \frac{N_1 \cdot V}{N}) \cdot 14 \cdot N'$$

onde:

V = Volume de NaOH gasto na titulação

V_2 = Volume de H_2SO_4 que recebeu o destilado

N_1 = Normalidade do NaOH

N' = Normalidade do H_2SO_4

4.2.7. pH do solo

O pH do solo com e sem incorporação de vinhaça foi medido ao final de 14, 19, 25, 29, 63, 81 e 110 dias de incubação. Para tanto, utilizou-se uma mistura de 10g de solo e 25 ml de água destilada.

4.2.8. Métodos estatísticos

As variáveis carbono evoluido e biomassa microbiana foram apresentadas em gráficos de barras e de perfis, - usando-se os pontos médios para cada tratamento ao longo do tempo.

Para comparação dos efeitos dos tratamentos - procedeu-se análise da variância, sendo utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado com 3 ou 4 repetições. No caso de resultar estatística F significativa para $\alpha = 0,01$, foram efetuados os contrastes entre médias pelo processo de Tukey (SNEDECOR e COCHRAN, 1980).

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados da decomposição da vinhaça incorporada ao solo, em termos de CO_2 evoluído e biomassa microbiana formada. A discussão e interpretação desses resultados serão feitos separadamente e em conjunto, avaliando a participação de cada um no processo de decomposição global.

Serão apresentados também, os resultados das formas do N complementar no solo e discutidos os possíveis processos microbiológicos envolvidos.

Por fim, far-se-á um comentário, interpretando conjuntamente os resultados obtidos para a decomposição da vinhaca e para o N complementar, no solo.

5.1. CARBONO EVOLUÍDO

A quantificação do carbono evoluído na forma de CO_2 (item 4.2.4.1.), permitiu avaliar o grau de decomposição do carbono orgânico e sua participação relativa no processo.

A seguir, serão apresentados e discutidos os resultados da evolução do carbono no solo sem incorporação de

vinhaça (item 5.1.1.) e com incorporação de vinhaça (item 5.1.2.).

5.1.1. Solo sem incorporação de vinhaça

5.1.1.1. Taxa diária média de evolução de carbono.

O Quadro 6 apresenta os dados da decomposição do carbono orgânico no tratamento sem vinhaça em termos de taxa diária média de evolução de carbono, expressa em $\mu\text{g C/g}$ de solo. A análise deste quadro revela que a decomposição do carbono orgânico apresentou-se ligeiramente maior logo no início da incubação para ambos os tratamentos, e descreveu lentamente até atingir um platô.

Os máximos de evolução de carbono foram obtidos nos primeiros 5 dias de incubação, sendo iguais a 13 e 12 $\mu\text{g C/g}$ de solo para os tratamentos sem N e com N, respectivamente.

Quadro 6 - Taxa diária média de evolução de carbono ($\mu\text{g C/g}$ - de solo), nos tratamentos com água a 60% da capacidade de retenção de água.

Tratamento	Incubação (dias)							
	5	10	15	29	45	66	87	105
	Evolução de CO_2 ($\mu\text{g C/g}$ de solo)							
Sem N	13	8	6	9	6	3	4	3
Com N	12	5	3	8	4	3	2	3

Ao final de 30 dias de incubação, as taxas diárias médias decresceram para 9 e 8 $\mu\text{g C/g}$ de solo para os tratamentos sem N e com N, respectivamente. E nos 75 dias restantes, a evolução de carbono estabilizou-se, atin-

gindo 3 $\mu\text{g C/g}$ de solo para ambos os tratamentos.

5.1.1.2. Quantidade total de carbono evoluído

A Figura 2 mostra a quantidade total acumulada de carbono evoluído, expressa em $\mu\text{g C/g}$ de solo, em cada período de incubação. As curvas podem ser divididas em duas fases; uma fase inicial de maior velocidade, compreendendo os primeiros 30 dias de incubação, e uma fase final de menor velocidade, compreendendo os 75 dias restantes da incubação.

Ao final de 105 dias de incubação, os solos sem N e com N evoluíram 548 e 425 $\mu\text{g C/g}$ de solo, respectivamente.

Estas evoluções correspondem, respectivamente, a 7,5 e 5,8% do carbono do solo, considerando que o teor inicial era de 7300 $\mu\text{g C/g}$ de solo.

Os resultados obtidos confirmam o fato de que tratamentos envolvendo secagem e reumedecimento do solo, promovem um incremento na decomposição do carbono do solo. A este respeito, ALEXANDER (1967) relata que, quando uma amostra de solo é seca ao ar e depois reumedecida, há um arranque na evolução de CO_2 que dura vários dias, seguido de um declínio e uma velocidade menor de mineralização do carbono.

5.1.2. Solo com vinhaça

5.1.2.1. Taxa diária média de evolução de carbono

A Figura 3 apresenta os dados da decomposição do carbono orgânico nos tratamentos com vinhaça, em termos de taxa diária média de evolução de carbono, expressa em $\mu\text{g C/g}$ de solo, para cada período de incubação. Nota-se nesta figura que, para os três tratamentos, houve maior evolução de carbono na fase inicial de incubação, seguida de quedas gradativas

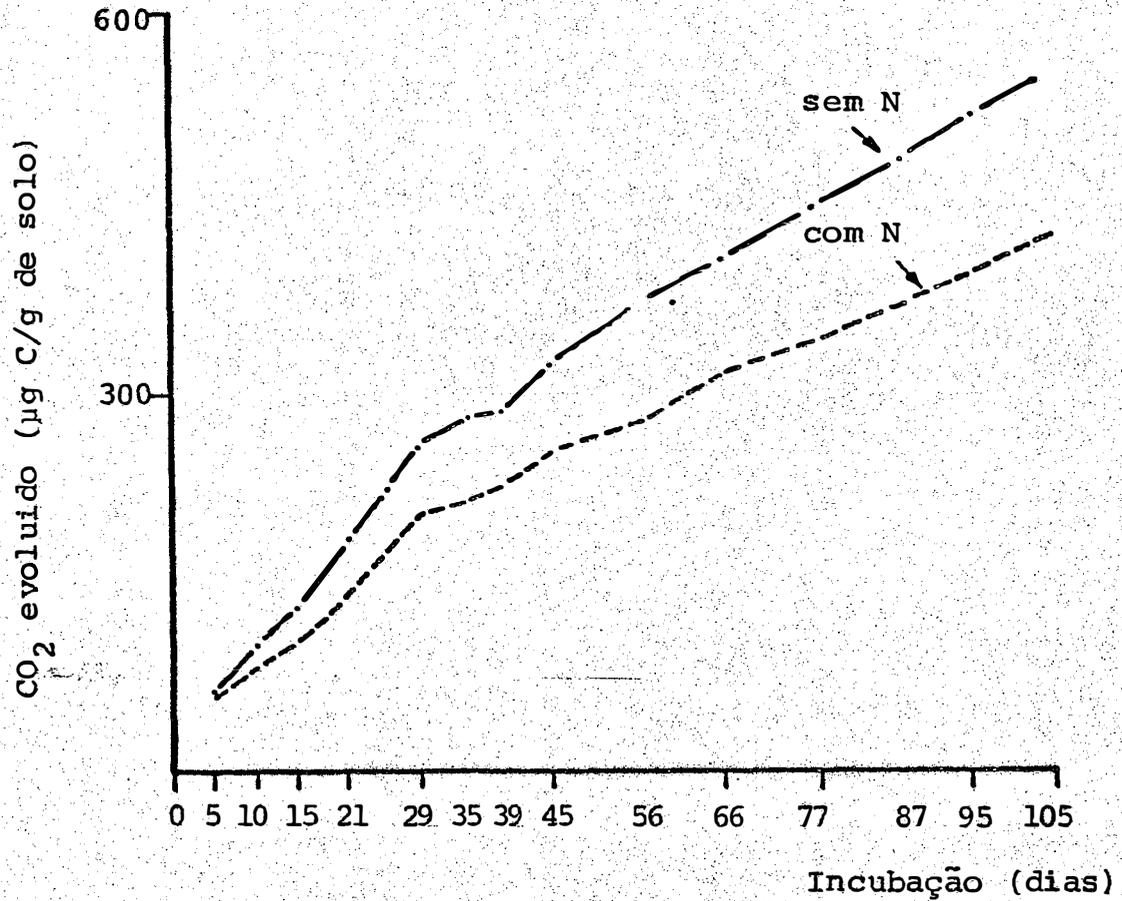


Figura 2 - Quantidade total acumulada de carbono evoluído (µg C/g de solo) nos solos com água a 60% da capacidade de retenção.

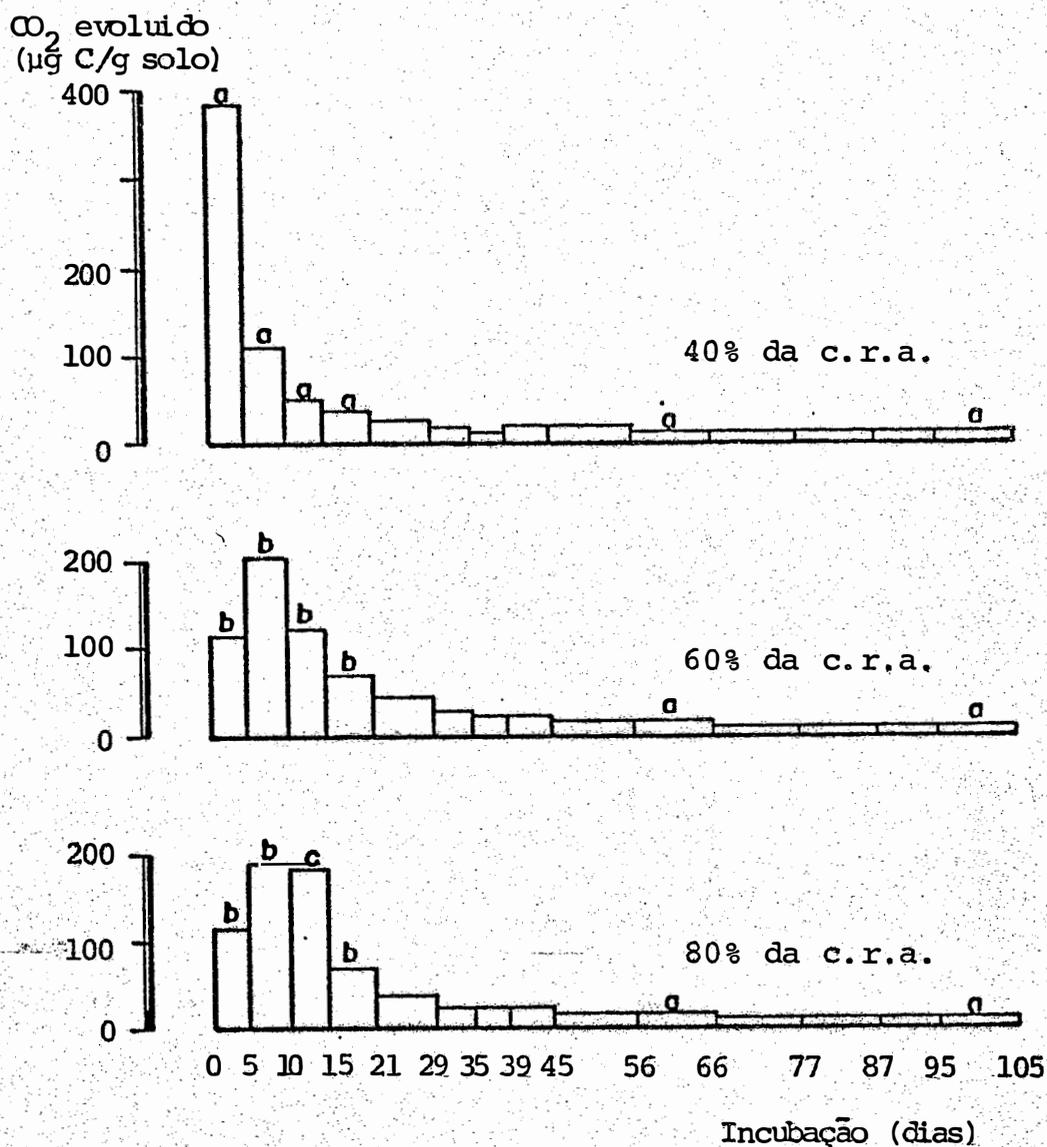


Figura 3 - Taxa diária média de evolução de CO₂ (µg C/g solo) nos tratamentos com vinhaça
c.r.a. = capacidade de retenção de água.

* Para cada período de incubação estatisticamente analisado, e comparando-se os três tratamentos, barras com letras iguais não diferiram significativamente (AMS Tukey a 1%).

e estabilização.

Embora a evolução do carbono tenha tido tal sequência de eventos, as taxas diárias médias de evolução de carbono diferiram de acordo com a umidade do solo, principalmente nos primeiros 30 dias de incubação.

No tratamento mantido a 40% da c.r.a., o máximo de evolução de carbono foi obtido nos primeiros 5 dias de incubação, sendo igual a 400 $\mu\text{g C/g}$ de solo. Após este período, a taxa diária média de evolução de carbono diminuiu bruscamente até por volta dos 30 dias de incubação, passando de 400 para 106, 47, 33 e 20 $\mu\text{g C/g}$ de solo. Nos 75 dias restantes da incubação, a evolução de carbono estabilizou-se, atingindo 7 $\mu\text{g C/g}$ de solo.

Os tratamentos mantidos a 60 e 80% da c.r.a. tiveram taxas diárias médias de evolução de carbono semelhantes. Desta forma, os resultados obtidos são apresentados em conjunto, como se segue.

Para estes tratamentos, os máximos de evolução de carbono foram obtidos no período de 5 a 10 dias de incubação, sendo iguais a 200 e 186 $\mu\text{g C/g}$ de solo, para os tratamentos a 60 e 80% da c.r.a., respectivamente. Neste último tratamento, o máximo de evolução de carbono manteve-se por mais 5 dias com taxa ligeiramente inferior, ou seja, de 180 $\mu\text{g C/g}$ de solo. Nos primeiros 5 dias de incubação, a taxa diária média foi de 113 $\mu\text{g C/g}$ de solo para ambos os tratamentos. E após os máximos obtidos, as taxas diárias médias decresceram gradativamente até 30 dias de incubação, atingindo 37 $\mu\text{g C/g}$ de solo. Nos 75 dias restantes da incubação, a evolução de carbono estabilizou-se, atingindo 7 $\mu\text{g C/g}$ de solo.

5.1.2.2. Quantidade total de carbono evoluído

A Figura 4 apresenta a quantidade total acumulada de carbono evoluído, expressa em $\mu\text{g C/g}$ de solo, para ca

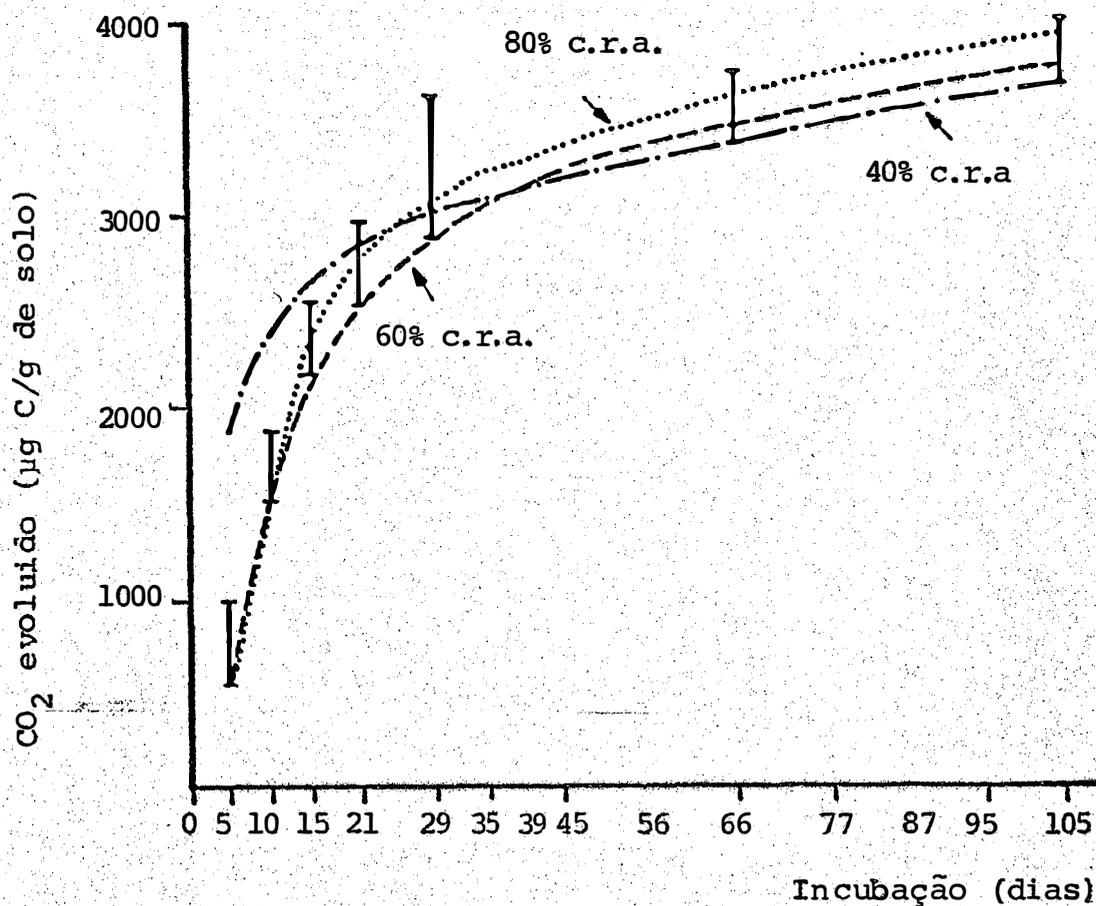


Figura 4 - Média acumulada de carbono evoluído ($\mu\text{g C/g solo}$) nos tratamentos com vinhaça, em função do tempo e da umidade do solo, e DMS (teste Tukey a 1%) para cada tempo de incubação estatisticamente analisado; c.r.a. = capacidade de retenção de água.

da período de incubação. Nesta representação, pode-se notar uma fase inicial de maior velocidade, compreendendo os primeiros 30 dias de incubação, seguida de uma fase final onde a velocidade diminui tendendo à uma estabilização.

Ao final do período de incubação, o solo mantido a 40% da c.r.a. evoluiu 3696 $\mu\text{g C/g}$ de solo. Esta evolução corresponde a 31% do carbono do solo, considerando-se que o teor inicial era de 12000 $\mu\text{g C/g}$ de solo, nos tratamentos com vinhaça. O solo mantido a 60% da c.r.a. evoluiu 3784 $\mu\text{g C/g}$ de solo, o que corresponde a 31,5% do carbono inicial; o solo mantido a 80% da c.r.a. evoluiu 3936 $\mu\text{g C/g}$ de solo, o que corresponde a 32,8% do carbono inicialmente existente no solo - tratado com vinhaça.

Embora as porcentagens totais de carbono evoluído tenham sido praticamente idênticas, as evoluções de carbono durante a incubação diferiram com a umidade de solo.

No solo mantido a 40% da c.r.a., 52% (1890 $\mu\text{g C/g}$ de solo) do total evoluído durante todo o período de incubação deu-se logo nos primeiros 5 dias. Neste mesmo período, os solos mantidos a 60 e a 80% da c.r.a. tiveram uma evolução de 14% (563 $\mu\text{g C/g}$ de solo) do total evoluído, representando quase 1/4 da evolução obtida para o solo a 40% da capacidade de retenção de água.

No período compreendido entre 5 e 10 dias de incubação, o solo mantido a 40% da c.r.a. evoluiu 14% (553 $\mu\text{g C/g}$ de solo) do total evoluído, o solo mantido a 60% da c.r.a. evoluiu 27% (1014 $\mu\text{g C/g}$ de solo) do total evoluído, perfazendo o dobro do obtido para o solo a 40% da capacidade de retenção de água. O solo mantido a 80% da c.r.a. evoluiu 24% (939 $\mu\text{g C/g}$ de solo) do total evoluído, perfazendo, também, quase o dobro do obtido para o solo a 40% da capacidade de retenção de água.

Ao final de 30 dias de incubação, os solos man

tidos a 40, 60 e 80% da c.r.a. evoluíram 81 (3020 $\mu\text{g C/g}$ de solo), 76 (2885 $\mu\text{g C/g}$ de solo) e 78% (3072 $\mu\text{g C/g}$ de solo) - do total evoluído, respectivamente.

Nos 75 dias restantes da incubação, 19% (676 $\mu\text{g C/g}$ de solo), 24% (899 $\mu\text{g C/g}$ de solo) e 22% (864 $\mu\text{g C/g}$ de solo) evoluíram dos solos a 40, 60 e 80% da c.r.a., respectivamente, em relação aos totais evoluídos.

A partir dos dados apresentados, nota-se que a umidade foi um fator condicionador da evolução do carbono orgânico.

O solo mantido a 40% da c.r.a. teve as maiores taxa diária média e velocidade de evolução de carbono, situadas logo aos 5 dias de incubação, enquanto que os demais solos, a 60 e 80% da c.r.a., tiveram máximas taxa diária média e velocidade de evolução de carbono inferiores, defasadas de 5 dias em relação ao solo mantido a 40% da capacidade de retenção de água.

Estas diferenças obtidas na decomposição, em termos de carbono evoluído na forma de CO_2 , conforme a umidade do solo, corrobora a citação de RODRIGO e POLLARD (1962) - de que a matéria orgânica decompõe-se mais lentamente em solos submersos que em solos arejados, embora o solo do presente experimento não fosse submerso, mas sim, encharcado, especialmente para as parcelas mais úmidas, a 80% da capacidade de retenção de água. E essa diferença na velocidade de evolução de carbono pode ser devida aos tipos microbianos e condições de decomposição, conforme discute WAKSMAN (1963); parcelas com o mesmo teor de carbono orgânico, mas sob condições mais úmidas, apresentam decomposição mais lenta em decorrência de um inadequado fornecimento de O_2 e, nestas condições anaeróbicas, a evolução de carbono diminui, em virtude da produção de outros compostos finais ricos em carbono, tais como o metano, ácidos orgânicos e álcoois (PARR, 1975).

TERRY *et alii* (1979b), medindo a decomposição de um resíduo orgânico em solos, preparado a partir da digestão anaeróbica de células de *Candida utilis* com ^{14}C marcado e sais minerais, encontraram que a decomposição foi rápida nos primeiros 28 dias de incubação e descreveu para uma velocidade mais baixa, quase constante, pelo restante do período e que ao final de 336 dias, 46% do ^{14}C do resíduo tinha evoluído para $^{14}\text{CO}_2$.

A defasagem obtida entre os máximos de taxa diária média de evolução de carbono pode corresponder a uma lag-fase para os solos mantidos a 60 e 80% da c.r.a., em que os microrganismos capazes de metabolizar e multiplicar nestas condições mais úmidas reproduzem-se progressivamente até atingirem uma biomassa ativa tal, que apresente assim, uma maior taxa de evolução de carbono. Mas, como a formação de células microbianas nestas condições mais úmidas é menor por unidade de carbono degradado, a decomposição torna-se mais lenta, conforme discute ALEXANDER (1967).

5.2. BIOMASSA MICROBIANA

A quantificação da biomassa microbiana no solo (item 4.2.5.), permitiu avaliar, nestes termos, a decomposição do material orgânico e sua participação relativa no processo.

5.2.1. Solo sem incorporação de vinhaça

O Quadro 7 apresenta os resultados da biomassa microbiana formada no solo dos tratamentos sem incorporação - de vinhaça, mantidos a 60% da c.r.a., com e sem complementação nitrogenada.

Este quadro mostra que a biomassa microbiana - manteve-se praticamente constante com o decorrer da incubação,

para os dois tratamentos. Este resultado era esperado, uma vez que não foi adicionado material orgânico ao sistema.

Quadro 7 - Biomassa microbiana ($\mu\text{g C/g}$ de solo) para os tratamentos sem vinhaça, porém, a 60% da capacidade de retenção de água.

Incubação (dias)	Biomassa Microbiana ($\mu\text{g C/g}$ de solo)	
	<u>sem adição de N</u>	<u>com adição de N</u>
0	116	69
11	52	69
15	112	60
60	91	63
88	103	86

5.2.2. Solo com vinhaça

A Figura 5 apresenta os resultados obtidos na quantificação da biomassa microbiana no decorrer da incubação. Para os tratamentos mantidos a 40 e 80% da c.r.a., nota-se uma fase inicial de aumento, seguida de uma fase posterior de queda, enquanto que para o tratamento a 60% da c.r.a., a biomassa aumentou continuamente com o tempo.

Embora as curvas tenham tido essa sequência de fases, as magnitudes obtidas para a biomassa microbiana, expressa em $\mu\text{g C/g}$ de solo, foram diferentes de acordo com a umidade do solo.

No tratamento mantido a 40% da c.r.a., o máximo de biomassa microbiana foi obtido aos 60 dias de incubação, sendo igual a 519 $\mu\text{g C/g}$ de solo. Neste tratamento, a biomassa apresentou-se com um brusco aumento inicial, considerando-se que no curto período compreendido entre 11 e 15 dias, o seu

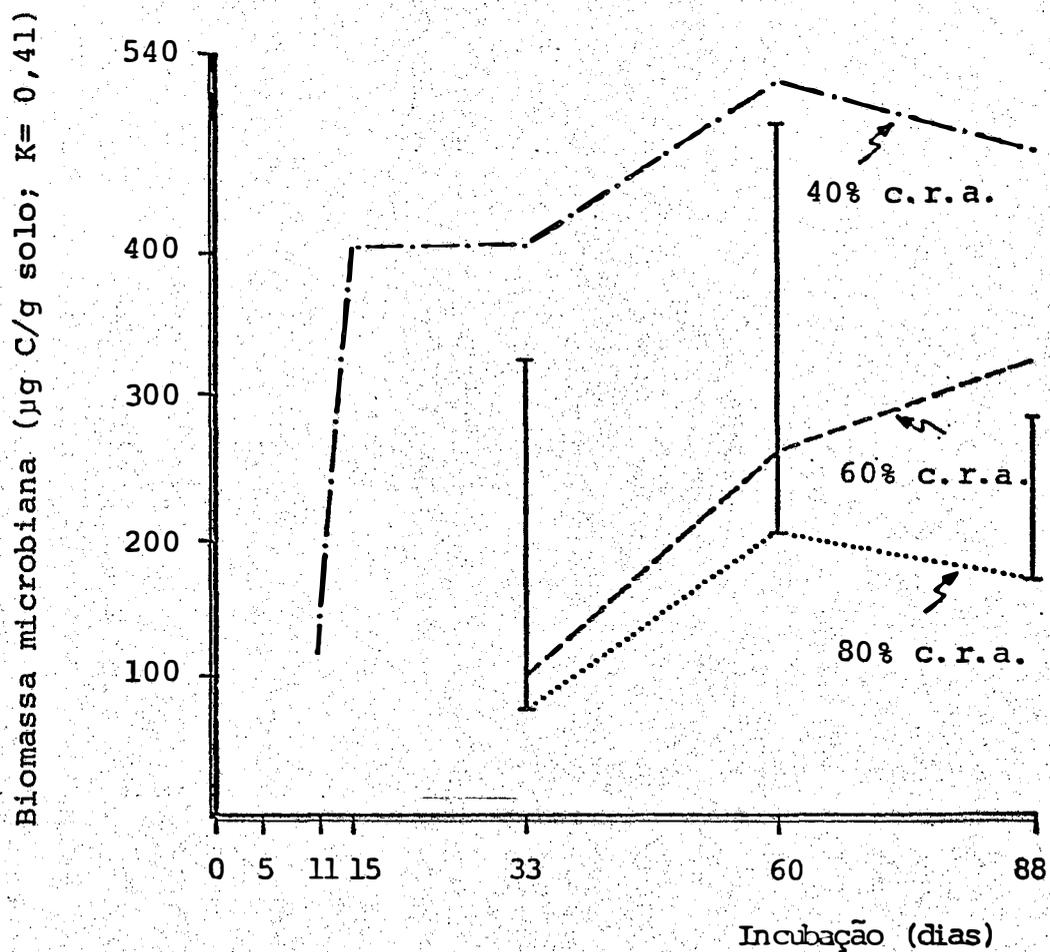


Figura 5 - Média da biomassa microbiana ($\mu\text{g C/g solo}$) formada nos tratamentos com vinhaça, em função do tempo e da umidade do solo, e DMS (teste Tukey a 1%) para cada tempo de incubação estatisticamente analisado. c.r.a. = capacidade de retenção de água.

valor quadruplicou, passando de 116 para 403 $\mu\text{g C/g}$ de solo. Após a fase de aumento gradativo até os 60 dias de incubação, seguiu-se um período de 28 dias, no qual a biomassa decresceu para 469 $\mu\text{g C/g}$ de solo.

No tratamento mantido a 60% da c.r.a., o máximo de biomassa microbiana foi obtido aos 88 dias de incubação, sendo igual a 320 $\mu\text{g C/g}$ de solo. Aos 60 dias de incubação, a biomassa microbiana foi de 258 $\mu\text{g C/g}$ de solo. Apesar do máximo ter ocorrido aos 88 dias de incubação, o período final de 28 dias foi uma fase em que o aumento da biomassa microbiana diminuiu.

No tratamento mantido a 80% da c.r.a., o máximo de biomassa microbiana foi obtido aos 60 dias de incubação, sendo igual a 199 $\mu\text{g C/g}$ de solo. Após essa fase de aumento gradativo, seguiu-se o período restante de 28 dias, no qual a biomassa decresceu para 166 $\mu\text{g C/g}$ de solo.

A análise dos resultados obtidos demonstra que a umidade é um fator condicionador da formação de biomassa microbiana no solo incorporado com vinhaça. De tal forma que, a quantidade de biomassa microbiana formada apresentou-se com uma relação de 11:1,25:1 (aos 60 dias de incubação) e de 13:2:1 (aos 88 dias de incubação), para os tratamentos mantidos a 40, 60 e 80% da c.r.a., respectivamente.

A menor formação de biomassa microbiana verificada para as parcelas mais úmidas (60 e 80% da capacidade de retenção), pode ser explicada pelo efeito que o teor de água exerce sobre os microrganismos (COCHRANE, 1958). Em condições encharcadas, o teor de O_2 diminuiu (ALEXANDER, 1967; PARR, 1975) e é de se esperar que a população microbiana também diminua, de tal modo que se torna menor o número de indivíduos capazes de metabolizar e reproduzir nestas condições, tal como foi encontrado no presente trabalho em termos de biomassa microbiana.

O teor de O_2 pode diminuir também, devido à aplicação de doses elevadas de um resíduo com DBO alta (BOUWER e CHANEY, 1974; PARR, 1975; AGBIM *et alii*, 1977).

Assim, a provável depleção de O_2 no solo do presente experimento, poderia ter uma causa dupla, particularmente para as parcelas mais úmidas (60 e 80% da c.r.a.), nas quais a capacidade de reoxigenação do solo tenha sido menor que a demanda na decomposição aeróbica do carbono; esta provável depleção de O_2 foi indiretamente observada pela menor formação de biomassa microbiana para as parcelas mais úmidas, considerando que o teor de carbono adicionado como vinhaça foi o mesmo para todos os níveis de umidade adotados. Sob baixo teor de O_2 , além de ser menor o número de microrganismos capazes de metabolismo e reprodução, a formação de células microbianas por unidade de C orgânico degradado é menor, devido à baixa produção de energia, característica de decomposição anaeróbica (ALEXANDER, 1967).

5.2.3. Biomassa microbiana nos períodos iniciais de incubação.

Retomando-se à Figura 5, verifica-se que, nos tratamentos com vinhaça a 40 e a 60 ou 80% da c.r.a., os resultados da biomassa microbiana iniciaram-se somente após 11 e 30 dias de incubação, respectivamente. Ou seja, não foram obtidas leituras nos tempos 0 e 5 dias e 0,5, 11 e 15 dias para esses tratamentos respectivamente. Isto se deve ao fato de ter havido uma inversão na evolução de CO_2 do solo, como demonstra a Figura 6 que apresenta os resultados da evolução de carbono nos solos irradiado e não irradiado, durante os 88 dias de incubação. Nesta figura, pode-se verificar que nos períodos anteriormente citados, de ausência de leitura para a biomassa microbiana, os solos irradiados tiveram menor desprendimento de CO_2 que os solos não irradiados.

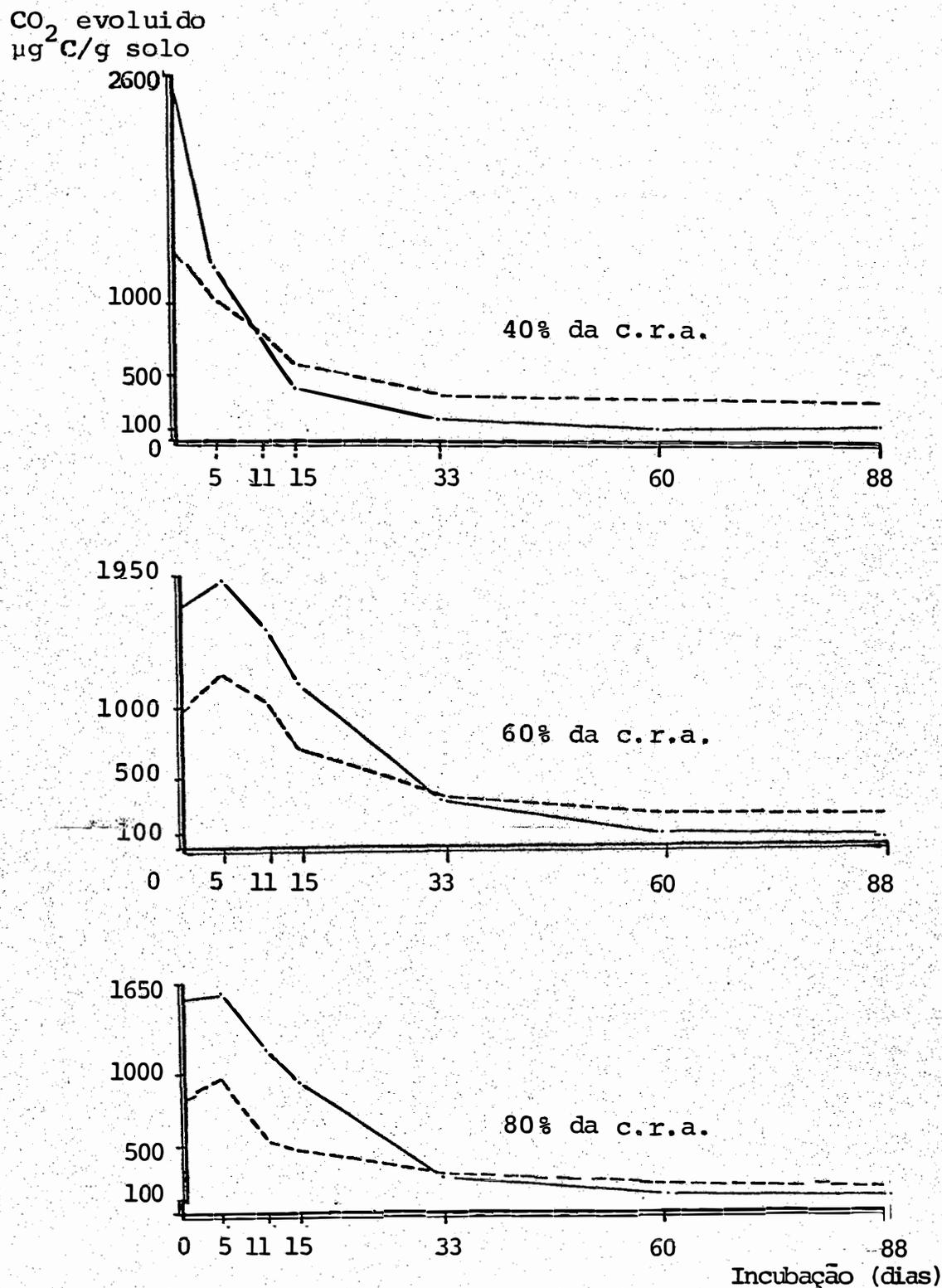


Figura 6 - CO₂ evoluído (μg C/g solo) do solo irradiado (---) e não irradiado (—) dos tratamentos com vinhaça. c.r.a. = capacidade de retenção de água

Embora pudessemos justificar esse menor desprendimento de CO_2 em virtude da não formação de uma biomassa microbiana suficientemente grande que superasse a sensibilidade do método, era de se esperar que as evoluções de carbono fossem, pelo menos, semelhantes para ambos os casos.

Em vista disso, poder-se-ia pensar que, para o presente experimento, a dose de 25 KGy de radiação gama tenha alterado alguma função ou propriedade do solo com vinhaça, tal como a formação de substâncias tóxicas (McLAREN, 1969). Salenius *et alii* (1967), citados por McLAREN (1969), contudo, não puderam extrair substâncias tóxicas de solo irradiado. Ainda quanto a esse aspecto, Skring e Thompson (1966), citados por McLAREN (1969), encontraram que a radiação gama afetou a utilização de matéria orgânica e a redução do nitrato, sob condições anaeróbicas, por *Pseudomonas denitrificans*; o efeito sendo mais pronunciado em solo úmido.

Por outro lado, JENKINSON (1976b), apresentando as restrições do uso da metodologia proposta para cálculo da biomassa microbiana, comenta que os resultados não são muito confiantes para solos que receberam grandes adições de matéria orgânica decomponível. Dentro desta linha, poder-se-ia colocar a vinhaça, desde que é um resíduo prontamente decomponível, apresentando-se em estado coloidal e rico em carboidratos.

Sendo assim, a ausência de leitura da biomassa microbiana pode também ser devida ao ataque preferencial da população do inóculo sobre o substrato vinhaça, ao invés da biomassa microbiana morta, nos solos irradiados.

Esta hipótese parece estar perfeitamente fundamentada, considerando-se que as parcelas mais úmidas (a 60 e 80% da c.r.a.) apresentaram-se com menor decomposição nos primeiros 30 dias de incubação, em termos de carbono evoluído; desta forma, a biomassa microbiana passou a ser detectada so-

mente quando o resíduo já se apresentasse com certo grau de decomposição, não interferindo mais na leitura.

Ainda quanto à facilidade de decomposição, Janson (1960), citado por SHIELDS *et alii* (1974), reportou que tecido microbiano marcado decompõe-se a velocidade marcadamente menor que glicose inicialmente adicionada ao solo.

Embora a vinhaça possa ser considerada como um resíduo mais prontamente disponível que células microbianas mortas, a análise dos resultados de sua decomposição em termos de carbono evoluido (Figura 4), revela que a porcentagem de carbono evoluido após 10 dias de incubação, situou-se ao redor de 20 e 13 para os solos a 40 e a 60 ou 80% da c.r.a., respectivamente. Esses valores são baixos em comparação aos valores de 50% e 41% obtidos na decomposição de células microbianas mortas, e podem ser devidos à existência de um "déficit" de O_2 no solo do presente experimento, em virtude da elevada DBO do resíduo e do elevado nível de umidade nos tratamentos a 60 e 80% da capacidade de retenção de água.

Comparando-se os resultados obtidos para os tratamentos com (Figura 5) e sem (Quadro 7) incorporação de vinhaça, ambos a 60% da c.r.a. e com suplementação de nitrogênio, nota-se que ao final de 60 ou 88 dias de incubação, a biomassa microbiana quadruplicou com a incorporação de vinhaça ao solo.

Esse aumento corrobora os resultados obtidos por ALMEIDA (1952), CAMARGO (1954) e CALDAS (1960), embora estes autores tenham verificado aumentos no número de microrganismos quando da adição de vinhaça ao solo.

5.3. DISTRIBUIÇÃO RELATIVA DO CARBONO E DECOMPOSIÇÃO DA VINHAÇA,

Após a quantificação do carbono evoluido e da

biomassa microbiana formada, segue-se a distribuição relativa do carbono e a decomposição da vinhaça.

5.3.1. Distribuição relativa do carbono nos tratamentos com vinhaça.

A Figura 7 apresenta a distribuição relativa do carbono nos tratamentos com vinhaça, evidenciando as porcentagens de carbono evoluído e carbono remanescente imobilizado (biomassa microbiana) e não imobilizado.

No cálculo destas distribuições relativas, a porcentagem de carbono evoluído foi determinada com base nos 12000 $\mu\text{g C/g}$ de solo inicialmente existentes no solo com vinhaça. A porcentagem de carbono remanescente foi calculada por diferença. Do total deste carbono remanescente, calculou-se as porcentagens relativas de carbono remanescente, imobilizado (biomassa microbiana) e não imobilizado.

Ao final de 88 dias de incubação, 23, 28 e 29% do carbono evoluiu para CO_2 , enquanto que 5, 4 e 2% do carbono foi imobilizado para biomassa microbiana, nos tratamentos mantidos a 40, 60 e 80% da c.r.a., respectivamente.

5.3.2. Decomposição da vinhaça incorporada ao solo.

Para o cálculo da decomposição da vinhaça, não foram considerados os efeitos da água e do carbono adicionado na forma de vinhaça sobre o carbono nativo do solo. O efeito do carbono poderia ser considerado se a vinhaça fosse marcada com ^{14}C .

O exame do Quadro 8, que apresenta resultados estimativos do carbono remanescente no solo, mostra que, ao final de 88 dias de incubação, os valores obtidos para os tratamentos com ou sem vinhaça são próximos, a diferença sendo

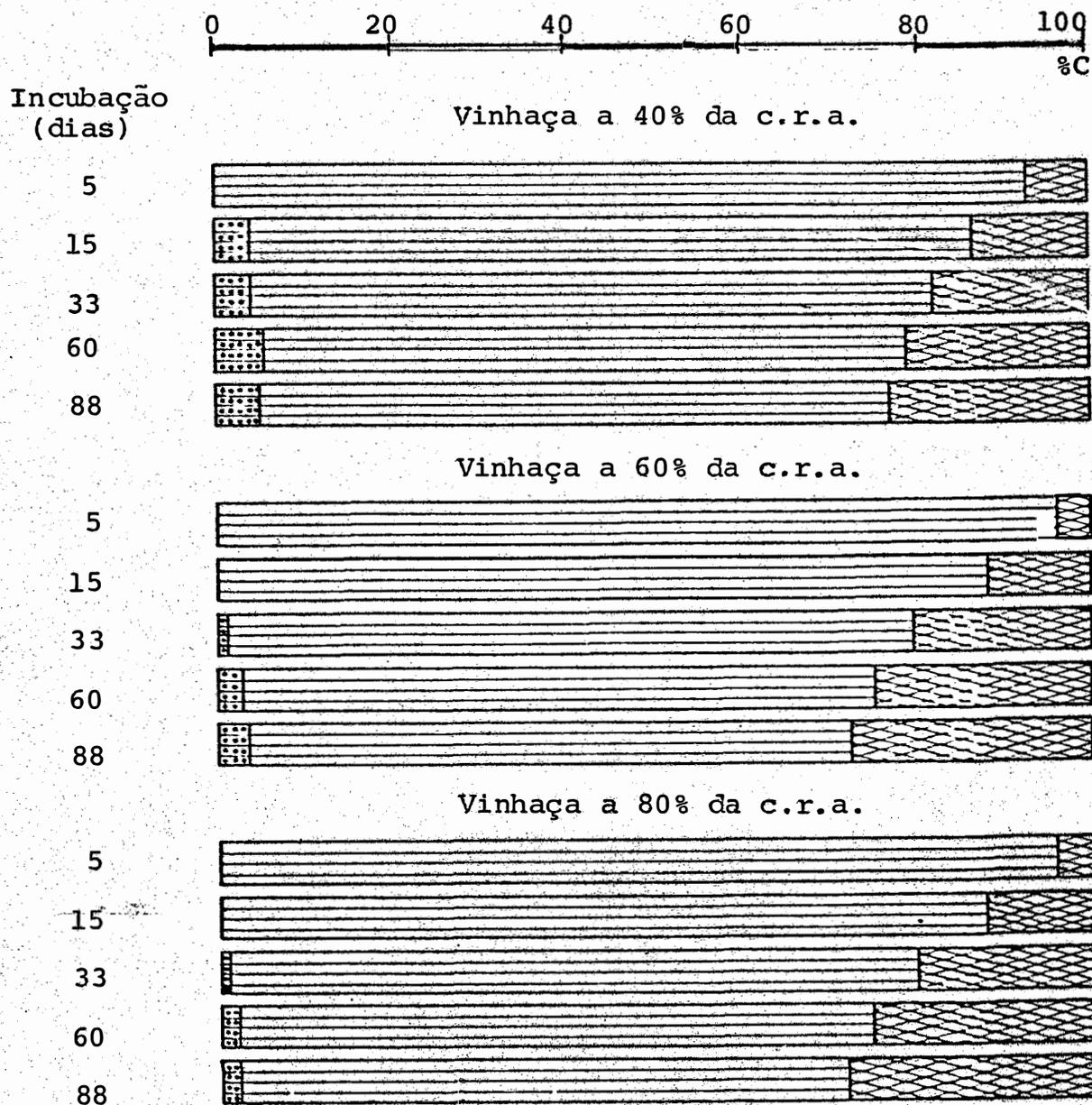
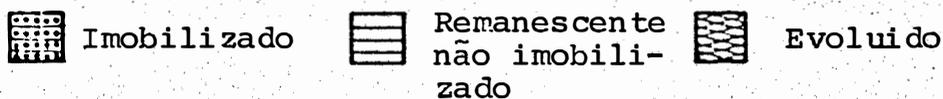


Figura 7 - Distribuição relativa do carbono nos tratamentos - com vinhaça.

c.r.a. = capacidade de retenção de água



talvez devida ao carbono retido como biomassa microbiana. Sendo assim, esta semelhança pode ser indicativa de que a maior parte, se não totalmente, do carbono evoluído para CO_2 , tenha sido oriundo da vinhaça.

Quadro 8 - Estimativa do carbono remanescente no solo ($\mu\text{g C/g}$ de solo) para os tratamentos com e sem incorporação de vinhaça.

Tratamento	Incubação (dias)				
	5	15	33	60	88
	Carbono remanescente ($\mu\text{g C/g}$ de solo)				
sem vinhaça (água 60% c.r.a.)	7240	7198	7092	7009	6931
com vinhaça (40% c.r.a.)	10123	9323	8954	8677	8431
com vinhaça (60% c.r.a.)	11446	9815	9015	8585	8338
com vinhaça (80% c.r.a.)	11415	9600	8831	8431	8185

c.r.a. = capacidade de retenção de água.

Sendo assim, a Figura 8 apresenta a provável distribuição do carbono da vinhaça, em decomposição no solo. Nesta representação, ao final da incubação, cerca de 60, 71 e 73% do total de carbono orgânico adicionado ao solo na forma de vinhaça, foram mineralizados para CO_2 , nos tratamentos a 40, 60 e 80% da c.r.a., respectivamente.

Nota-se ainda que, para estes tratamentos, 25, 24 e 13% do total de carbono orgânico adicionado ao solo na forma de vinhaça, foram imobilizados para a formação de biomassa microbiana.

Considerando-se que o processo de decomposição como um todo engloba dentre outros, tanto a saída de carbono do solo na forma de CO_2 como a sua imobilização para formação de biomassa microbiana, as porcentagens passam para 85, 95 e 86% para os mesmos tratamentos.

Deste modo, ao final da incubação, restaram 16, 5 e 13% de vinhaça não decomposta nos tratamentos mantidos a 40, 60 e 80% da c.r.a., respectivamente.

A partir dos dados apresentados, nota-se que a evolução de carbono foi o processo de maior intensidade na decomposição da vinhaça incorporada ao solo, na medida em que 2/3 do carbono da vinhaça foi evoluído para CO_2 e menos de 1/3 imobilizado para biomassa microbiana.

Porém, isto não significa que a conversão de substrato em massa celular não seja importante na decomposição de resíduos orgânicos, desde que a biomassa tem um duplo papel no solo: como agente da transformação dos materiais orgânicos que entram naturalmente no solo e também como um reservatório pequeno, porém ativo, de N, P, e S (JENKINSON e LADD, 1981). Ainda, segundo estes autores, do ponto de vista de química do solo, a biomassa microbiana é uma fração pequena, mas ativa, da matéria orgânica do solo, que tem uma contribuição na nutrição das plantas muito maior que o seu tamanho possa

sugerir.

5.4. DESTINO DA COMPLEMENTAÇÃO NITROGENADA

As variações e transformações do nitrogênio complementar que tomaram parte no solo incorporado com vinhaça são apresentados a seguir.

5.4.1. Variações no teor do $^{15}\text{N}_{\text{total}}$

O Quadro 9 apresenta os teores das formas de ^{15}N no solo, em função do tratamento e do período de incubação.

Quanto ao $^{15}\text{N}_{\text{total}}$, calculado a partir da soma dos valores determinados para o $^{15}\text{NH}_4^+$ e $^{15}\text{N}_{\text{org}}$, a análise deste quadro revela que o seu teor não se manteve constante com o decorrer da incubação mas, apresentou decréscimo gradativo.

No tratamento sem vinhaça, o teor de $^{15}\text{N}_{\text{total}}$, expresso em $\mu\text{g } ^{15}\text{N/g}$ de solo, passou de 124 para 113.

No tratamento com vinhaça mantido a 40% de c.r.a., o teor de $^{15}\text{N}_{\text{total}}$, expresso em $\mu\text{g } ^{15}\text{N/g}$ de solo, passou de 118 para 103.

No tratamento com vinhaça mantido a 60% da c.r.a., o teor de $^{15}\text{N}_{\text{total}}$, expresso em $\mu\text{g } ^{15}\text{N/g}$ de solo, passou de 118 para 106.

No tratamento com vinhaça mantido a 80% da c.r.a., o teor de $^{15}\text{N}_{\text{total}}$, expresso em $\mu\text{g } ^{15}\text{N/g}$ de solo, passou de 120 para 83.

5.4.2. Variações no teor de $^{15}\text{NH}_4^+\text{pf}$

A análise do Quadro 9 mostra também, que o teor de $^{15}\text{NH}_4^+\text{pf}$ decresceu gradativamente com o decorrer da incuba-

Quadro 9 - Formas do $^{15}\text{N}_{\text{pf}}$ no solo, em função dos tratamentos e do período de incubação.

Nitrogênio	Incubação (dias)						
	0	5	11	15	33	60	88
————— $\mu\text{g N/g}$ de solo —————							
Solo sem incorporação de vinhaça							
$^{15}\text{N}_{\text{total}}$	124	128	132	135	133	122	113
$^{15}\text{NH}_4^+\text{pf}$	117	119	122	118	117	106	99
$^{15}\text{N}_{\text{org}}\text{pf}$	7	9	10	17	16	16	14
Solo com vinhaça; 40% da c.r.a.							
$^{15}\text{N}_{\text{total}}$	118	91	96	106	106	99	104
$^{15}\text{NH}_4^+\text{pf}$	111	43	51	58	58	60	60
$^{15}\text{N}_{\text{org}}\text{pf}$	7	48	45	48	48	39	44
Solo com vinhaça; 60% da c.r.a.							
$^{15}\text{N}_{\text{total}}$	117	125	123	123	103	102	106
$^{15}\text{NH}_4^+\text{pf}$	108	101	98	84	61	60	58
$^{15}\text{N}_{\text{org}}\text{pf}$	9	24	25	39	42	42	48
Solo com vinhaça; 80% da c.r.a.							
$^{15}\text{N}_{\text{total}}$	121	124	128	124	101	62	83
$^{15}\text{NH}_4^+\text{pf}$	111	105	96	96	56	21	37
$^{15}\text{N}_{\text{org}}\text{pf}$	10	19	32	28	45	41	46

c.r.a. = capacidade de retenção de água.

$^{15}\text{NH}_4^+\text{pf}$ = nitrogênio na forma amoniacal proveniente da complementação.

$^{15}\text{N}_{\text{org}}\text{pf}$ = nitrogênio na forma orgânica proveniente da complementação.

ção, para todos os tratamentos.

No tratamento com água, o teor de $^{15}\text{NH}_4^+$ pf decresceu lentamente, apresentando um decréscimo de $25 \mu\text{g } ^{15}\text{N/g}$ de solo, o que significa dizer que 20% do $^{15}\text{NH}_4^+$ adicionado ao solo, foi transformado ao final da incubação.

Nos tratamentos com vinhaça, o decréscimo no teor de $^{15}\text{NH}_4^+$ pf foi acentuado, caracterizando-se com uma rápida velocidade de queda inicial, seguida de velocidades menores que tenderam à estabilização. Apesar dessa sequência comum de eventos, os períodos de decréscimo para o alcance de um nível estável, foram diferentes, conforme a umidade do solo.

No tratamento com vinhaça mantido a 40% da c. r.a., o período de queda no teor de $^{15}\text{NH}_4^+$ pf compreendeu os primeiros 15 dias de incubação, atingindo um decréscimo de $61 \mu\text{g } ^{15}\text{N/g}$ de solo. Nos 77 dias restantes, o teor de $^{15}\text{NH}_4^+$ pf manteve-se praticamente constante e ao final, o decréscimo médio registrado foi de $59 \mu\text{g } ^{15}\text{N/g}$ de solo.

No tratamento com vinhaça mantido a 60% da c. r.a., o período de queda no teor de $^{15}\text{NH}_4^+$ pf estendeu-se até os 33 dias de incubação, atingindo um decréscimo de $56 \mu\text{g } ^{15}\text{N/g}$ de solo. Nos 55 dias restantes, o teor de $^{15}\text{NH}_4^+$ pf manteve-se praticamente constante e ao final, o decréscimo médio registrado foi de $60 \mu\text{g } ^{15}\text{N/g}$ de solo.

No tratamento com vinhaça, mantido a 80% da c. r.a., o período de queda no teor de $^{15}\text{NH}_4^+$ pf não teve um nítido limite, ou seja, estendeu-se por todo o período de 88 dias de incubação. Ao final, o decréscimo médio encontrado foi de $84 \mu\text{g } ^{15}\text{N/g}$ de solo.

5.4.3. Outras formas de nitrogênio decorrentes da transformação do $^{15}\text{NH}_4^+$ pf incorporado ao solo.

5.4.3.1. $^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf

O Quadro 9 também mostra que, concomitantemente ao decréscimo do $^{15}\text{NH}_4^+$ pf, ocorre aumento no teor de $^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf no solo, para todos os tratamentos. Esse aumento é caracterizado por 2 fases: uma inicial, de aumento gradativo até um máximo, a partir do qual segue-se uma fase final onde o teor de $^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf mantém-se praticamente constante.

No tratamento com água, o aumento no teor de $^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf estendeu-se até os 15 dias de incubação, onde atingiu $17 \mu\text{g } ^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf/g de solo. Nos 73 dias restantes, o $^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf no solo manteve-se praticamente constante, com um teor médio de $16 \mu\text{g } ^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf/g de solo, equivalente a 63% do total de $^{15}\text{NH}_4^+$ pf transformado.

No tratamento com vinhaça, mantido a 40% da c. r.a., o aumento no teor de $^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf estendeu-se até os 15 dias de incubação, onde atingiu $48 \mu\text{g } ^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf/g de solo. Nos 73 dias restantes, o $^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf no solo manteve-se praticamente constante, com um teor médio de $44 \mu\text{g } ^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf/g de solo.

No tratamento com vinhaça, mantido a 60% da c. r.a., o aumento no teor de $^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf estendeu até os 33 dias de incubação, onde atingiu $42 \mu\text{g } ^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf/g de solo. Nos 55 dias restantes, o $^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf no solo manteve-se praticamente constante com um teor médio de $44 \mu\text{g } ^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf/g de solo.

No tratamento com vinhaça, mantido a 80% da c. r.a., o aumento no teor de $^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf estendeu até os 33 dias de incubação, onde atingiu $45 \mu\text{g } ^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf/g de solo. Nos 55 dias restantes, o $^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf no solo manteve-se praticamente constante, com um teor médio de $44 \mu\text{g } ^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pf/g de solo.

5.4.3.2. $^{15}\text{NO}_3^-$ pf

Não foi constatada a ocorrência de nitratos nas análises efetuadas. Entretanto, isto não significa que a complementação nitrogenada não tenha sido oxidada à forma ní-

trica, uma vez que podem ter ocorrido erros analíticos ou então, o nitrato formado pode ter-se transformado para gases voláteis através da redução desassimilatória.

5.4.3.3. $^{15}\text{N}_2$

Da mesma forma que o nitrato, o gás $^{15}\text{N}_2$ não foi detectado nas análises procedidas. Mais uma vez podem ter ocorrido erros metodológicos.

5.4.4. Distribuição relativa do ^{15}N no solo com vinhaça.

A Figura 9 apresenta a distribuição relativa do ^{15}N no solo dos tratamentos com vinhaça.

Nesta representação, verifica-se uma estreita relação entre as curvas do $^{15}\text{NH}_4^+\text{pf}$ e do $^{15}\text{N}_{\text{org}}\text{pf}$. À medida que o teor relativo de $^{15}\text{NH}_4^+\text{pf}$ decresce, o teor relativo do $^{15}\text{N}_{\text{org}}\text{pf}$ cresce com velocidade semelhante, de tal modo que os máximos e mínimos são atingidos em tempos muito próximos. A partir daí, as curvas apresentam-se próximas uma da outra e tendendo à estabilização.

Embora as curvas tenham tido essas características comuns, os períodos necessários para atingir-se a estabilização foram diferentes, conforme a umidade do solo.

Ao final do período de incubação, 50, 51 e 70% do nitrogênio amoniacal inicialmente adicionado, passaram para outras formas, nos solos mantidos a 40, 60 e 80% da c.r.a., respectivamente.

Para estes mesmos tratamentos, 37, 44 e 38% do nitrogênio amoniacal inicialmente adicionado, foram imobilizados pela população microbiana.

Verifica-se também, nesta figura, o decréscimo

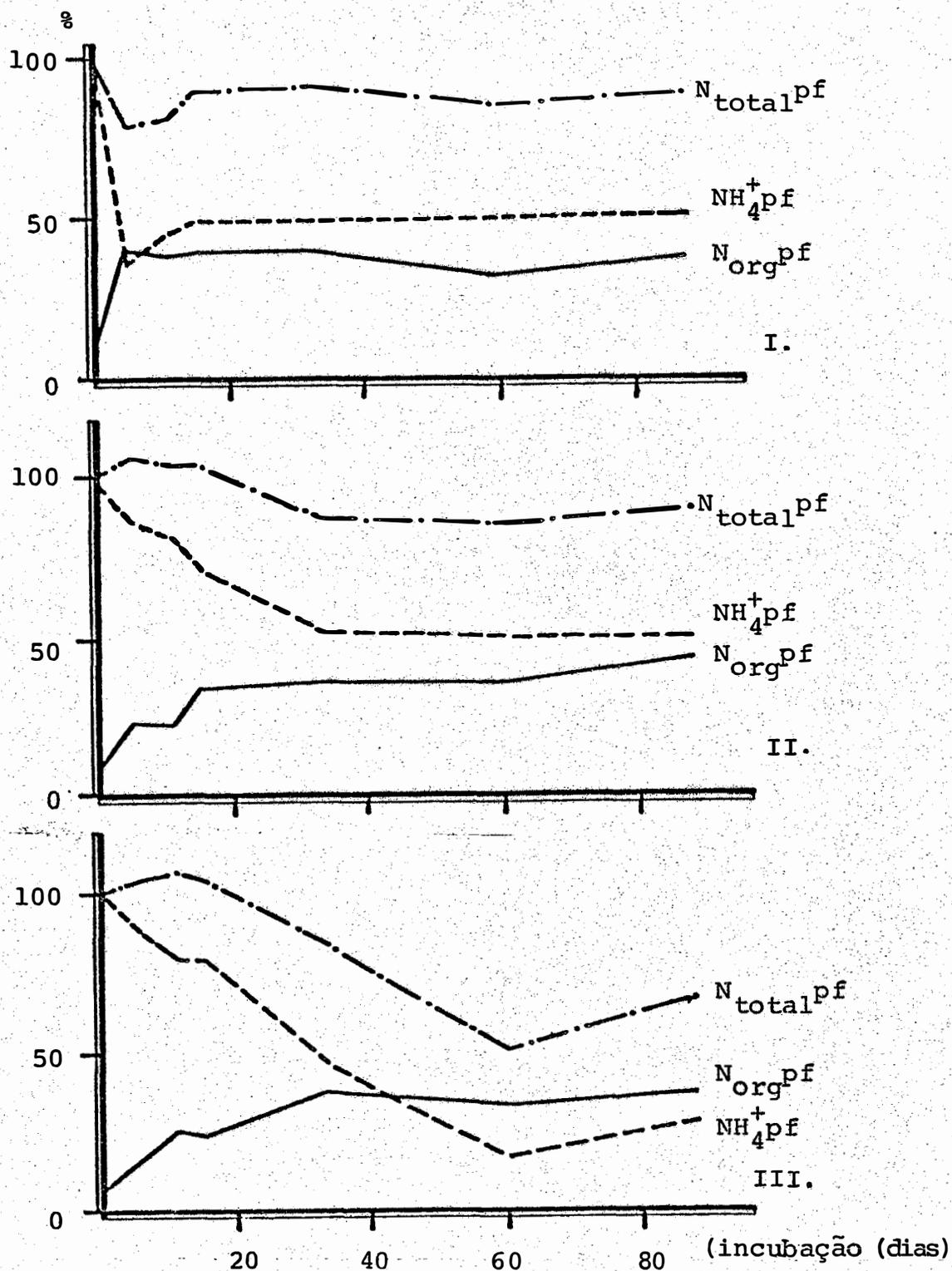


Figura 9 - Distribuição relativa do ^{15}N no solo para os tratamentos com vinhaça a 40% (I); 60% (II) e 80% (III) da capacidade de retenção de água.

no teor de $^{15}\text{N}_{\text{total}}$, anteriormente descrito no item 5.4.1. .
 Ao final da incubação, os decréscimos registrados foram de 12, 10 e 33% do $^{15}\text{N}_{\text{total}}$ do solo, para os tratamentos mantidos a 40, 60 e 80% da c.r.a., respectivamente.

5.4.5. Balanço do ^{15}N no solo

O Quadro 10 apresenta o balanço do ^{15}N no solo dos tratamentos com vinhaça, evidenciando as porcentagens de $^{15}\text{NH}_4^+$ transformado, de $^{15}\text{N}_{\text{org pf}}$ e de $^{15}\text{N}_{\text{pf}}$ não recuperado, ao final de 88 dias de incubação.

Quadro 10 - Balanço (%) do ^{15}N no solo dos tratamentos com vinhaça, aos 88 dias de incubação.

Capacidade de retenção de água (%)	% $^{15}\text{NH}_4^+$ transformado	
	$^{15}\text{N}_{\text{org pf}}$	$^{15}\text{N}_{\text{pf}}$ não recuperado
40	37	13
60	44	7
80	38	32

Os resultados apresentados no Quadro 9 podem ser interpretados através de uma série de complexos processos microbiológicos envolvendo o nitrogênio, que ocorrem no solo.

O decréscimo registrado no teor de $^{15}\text{NH}_4^+$ no solo pode ser devido à imobilização microbiana, conforme discute ALEXANDER (1967), e à nitrificação, conforme discute CAMPBELL e LEES (1967).

O concomitantemente aumento registrado no teor de $^{15}\text{N}_{\text{org pf}}$ indica que houve imobilização do $^{15}\text{NH}_4^+$ pela população microbiana. E, embora as velocidades de imobilização

tenham diferido conforme a umidade do solo, ao final de 88 dias de incubação as porcentagens de imobilização foram semelhantes, independentemente da umidade do solo.

Quanto ao balanço do ^{15}N no solo, o "deficit" encontrado é indicativo que, além da imobilização microbiana detectada, parte do $^{15}\text{NH}_4^+$ pode ter sido transformado para formas nítricas que não foram detectadas pela metodologia usada ou que então, essas formas nítricas tenham sido rapidamente perdidas por processos microbiológicos desnitrificantes, cujos gases de ^{15}N ou não foram detectados pela metodologia usada ou foram fixados por microrganismos anaeróbicos assimbióticos.

A umidade do solo parece ter sido um fator condicionador do decréscimo registrado no teor de $^{15}\text{N}_{\text{total}}$; o tratamento mantido sob condições mais úmidas (80% da c.r.a.) apresentando-se com um decréscimo maior.

Admitindo ter ocorrido desnitrificação, o fato acima descrito é perfeitamente explicado, desde que a desnitrificação é mais acentuada sob condições de baixo teor ou ausência de O_2 (DELWICHE e BRYAN, 1976); o nitrato formado na camada aeróbica do solo migra para a camada anaeróbica, inferior, onde é reduzido para gases voláteis de N (REDDY *et alii*, 1980).

Porém, considerando-se os dados do Quadro 11 que apresenta os resultados das leituras do pH do solo, nota-se que este manteve-se ácido durante todo o período de incubação para todos os tratamentos.

Esta observação é imprescindível, considerando-se a citação de ALEXANDER (1967) de que em condições ácidas, o gás predominante do processo desnitrificante é o N_2O .

Sendo assim, a ausência de leitura para a desnitrificação no presente trabalho pode ter sido devida à leitura de um gás inexistente ou de teor muito baixo.

Quadro 11 - pH do solo, nos tratamentos com e sem vinhaça, em vários tempos da incubação.

Tratamento	Incubação (dias)						
	0	5	11	15	33	60	88
	pH						
Solo sem vinhaça (água 60% c.r.a.)	5,4	5,4	5,5	5,4	5,5	5,4	5,4
solo com vinhaça (40% c.r.a.)	5,6	5,6	5,6	5,8	5,6	5,7	5,8
solo com vinhaça (60% c.r.a.)	5,2	5,3	5,3	5,6	5,6	5,7	5,8
solo com vinhaça (80% c.r.a.)	5,4	5,5	5,9	6,2	6,1	6,1	6,3

c.r.a. = capacidade de retenção de água.

5.5. RELAÇÃO CARBONO-NITROGÊNIO NO PROCESSO DE DECOMPOSIÇÃO DA VINHAÇA NO SOLO.

Após a apresentação e discussão dos resultados obtidos para a decomposição dos compostos de carbono e para as transformações microbiológicas da complementação nitrogenada quando da incorporação de vinhaça ao solo, torna-se interessante a discussão desses dois eventos em conjunto.

Considerando que a decomposição compreende a evolução de CO_2 e formação de nova massa celular, além de intermediários metabólitos, é fácil entender que o processo depende de uma imobilização de nutrientes essenciais como o N, que fazem parte do metabolismo e estrutura celular, conforme discute ALEXANDER (1967).

Neste contexto, pode-se verificar, para o pre-

sente experimento, que a formação de biomassa microbiana (Figura 5) foi acompanhada de um aumento no teor de N imobilizado (Figura 9).

Nos períodos de maior velocidade de imobilização do nitrogênio não se detectou biomassa microbiana, em virtude dos fatores anteriormente abordados no item 5.2.3., mas é de se esperar que ela tenha aumentado também.

Após os máximos obtidos para a imobilização do N, seguiu-se um período em que o processo estabilizou-se mas, a biomassa microbiana continuou aumentando. E esse aumento crescente da biomassa microbiana pode ter duas explicações: a primeira é que os microrganismos podem ter acumulado muitos compostos ricos em carbono e, como o método usado (item 4.2.5.) é baseado no carbono evoluido, o resultado seria superestimado; a segunda é que a população microbiana tenha imobilizado o nitrogênio do solo ou do resíduo em questão, ao invés da complementação com $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

6. CONCLUSÕES

Nas condições do presente trabalho e em função dos resultados obtidos, pode-se extrair as seguintes conclusões:

1 - Após três meses de incubação, 2/3 do carbono da vinhaça foi mineralizado para CO_2 em todos os tratamentos. Porém, a velocidade desta mineralização foi inversamente proporcional ao aumento da umidade do solo, ou seja, a mineralização foi significativamente mais rápida para os solos mantidos a 40% da c.r.a. (capacidade de retenção de água).

2 - Do total do carbono orgânico da vinhaça, remanescente no solo, 61, 83 e 50% correspondem à biomassa microbiana formada nos tratamentos a 40, 60 e 80% da c.r.a., respectivamente; os restantes, representam carbono da vinhaça que não foi microbiologicamente imobilizado.

3 - A umidade do solo, na medida em que condicionou o teor de O_2 no solo, atuou de maneira significativa - na formação de biomassa microbiana. A velocidade, bem como a quantidade formada, foi maior para os solos menos úmidos.

4 - A incorporação de vinhaça ao solo quadruplicou a biomassa microbiana.

5 - Ao final de três meses de incubação, 16, 5

e 13% do carbono orgânico da vinhaça permaneceu não mineralizado e nem imobilizado microbiologicamente, nos tratamentos mantidos a 40, 60 e 80% da c.r.a., respectivamente.

6 - A mineralização do carbono orgânico da vinhaça para CO_2 foi mais representativa que a formação de biomassa microbiana, no processo de decomposição como um todo.

7 - Quanto ao carbono orgânico nativo do solo, a água contribuiu para uma pequena decomposição deste, em termos tanto de mineralização para CO_2 (5%) quanto de formação de biomassa microbiana (1%).

8 - A complementação nitrogenada sofreu imobilização microbiana, tanto mais rápida quanto menos úmido o solo incorporado com vinhaça. Porém, após três meses de incubação a porcentagem de imobilização foi semelhante, independentemente da umidade do solo, ou seja, de cerca de 40%.

9 - Os "deficits" registrados no balanço da complementação nitrogenada são indicativos de que possa ter ocorrido processos microbiológicos desnitrificantes, especialmente no tratamento a 80% da c.r.a.

10 - Do total da complementação nitrogenada aplicada, 50 e 30% permaneceram inalterados, no solo dos tratamentos a 40 ou 60 e a 80% da c.r.a.

11 - A quantidade de nitrogênio (38 Kg N/ha) , adicionada como complementação à vinhaça, pode ser menor, uma vez que no final da incubação, praticamente não havia mais vinhaça, enquanto que restavam 2/3 do nitrogênio complementar.

7. SUMMARY

It was studied and confronted, in condition of laboratory, the decomposition of vinasse incorporated at a rate of 200 m³/ha to a Red Yellow Latossol, maintained at a 40, 60 and 80% of the water capacity retention, considering the CO₂ evolved and the microbial biomass formed. It was accompanied too, the microbiological transformations of the nitrogen complementation, enriched in nitrogen-15, done at the incorporation of vinasse in soil. The incubation was done in dark at a 25± 2°C, during a period of three months.

The CO₂ evolved was appreciated periodically by retention in NaOH, followed by titulometry with HCl.

The microbial biomass was determined by one variation of the method proposed by JENKINSON and POWLSON (1976), using gamma radiation as biocidal agent.

The evolution of gas of ¹⁵N was analysed in mass spectrometer; the N mineral by extraction with KCl, followed of distillation with MgO and Devarda's league, and titulation with NaOH; the N organic was determined through the kjeldahl's method, described by BREMNER (1965). The enrichment in ¹⁵N of the mineral's and organic's forms of nitrogen was analysed in mass spectrometer, according to the Rittemberg's method, described by TRIVELIN *et alii* (1973).

Rittemberg's method, described by TRIVELIN *et alii* (1973).

In these experimental conditions, and according to the methodology adopted, it was observed that the soil's humidity conditioned the vinasse's decomposition, as in terms of evolution of CO₂ as the formation of the microbial biomass. However, by ending three months of incubation, practically all the vinasse was decomposed in all the treatments. In this process, 2/3 of the organic carbon incorporated was mineralized to CO₂ and less than 1/3 was immobilized to microbial biomass.

The quantity of complementary nitrogen can be considered excessive so that at the end of the incubation's period, practically there is not vinasse in the soil, but remained 2/3 of the nitrogen complementation.

8. LITERATURA CITADA

- AGBIM, N.N.; SÁBEY, B.R. e D.C. MARKSTROM, 1977. Land application of sewage-sludge: V. Carbon dioxide production as influenced by sewage sludge and wood waste mixtures. J. Environ. Qual., Madison, 6(4):446-451.
- ALEEM, M.I.H., 1970. Oxidation of inorganic nitrogen compounds. Ann. Rev. Plant Physiol., Palo Alto, 21:67-90.
- ALEXANDER, M., 1967. Introduction to soil Microbiology. 4^a ed. New York. John Wiley, 472 p.
- ALLISON, F.E. e R.G. COVER, 1960. Rates of decomposition of shortleaf pine sawdust in soil at various levels of nitrogen and lime. Soil Sci., Baltimore, 89:194-201.
- ALMEIDA, J.R., 1952. O problema da vinhaça em São Paulo. Piracicaba, Instituto Zimotécnico. 24 p. (Boletim 3).
- ANDERSON, J.P.E. e K.H. DOMSCH, 1978. Mineralization of bacteria and fungi in chloroform-fumigated soils. Soil Biol. Biochem., Oxford, 10:207-213.
- BOUWER, H. e R.L. CHANEY, 1974. Land treatment of wastewater.

- Adv. Agronomy, New York, 26:133-176.
- BREMNER, J.M., 1965. Inorganic forms of nitrogen. In: Black, C.A. (ed) Methods of Soil Analysis, Madison, American Society of Agronomy, 1179-1237.
- BROADBENT, F.E. e M.E. TUSNEEM, 1971. Losses of nitrogen from some flooded soils in tracer experiments. Soil Sci.Soc.Amer. Proc., Madison, 35:922-926.
- BROADBENT, F.E. e W.V. BARTHOLOMEW, 1948. The effect of quantity of plant material added to soil on its rate of decomposition. Soil Sci.Soc.Amer.Proc., Madison, 13:271-274.
- CALDAS, H.E., 1960. Os fenômenos microbiológicos nos solos tratados com calda de destilaria. Boletim Técnico do Instituto Agronômico do Nordeste, 10:41-77.
- CAMARGO, R., 1954. O desenvolvimento da flora microbiana nos solos tratados com vinhaça. Análise Quantitativa, Piracicaba. Instituto Zimotécnico, 51-p. Boletim nº 9.
- CAMPBELL, N.E.R. e H. LEES, 1967. The nitrogen cycle. In: McLaren, A.D. e G.H. Peterson (eds). Soil Biochemistry, New York, Marcel Dekker, Vol. 1, p. 194-215.
- CHENG, H.H. e L.T. KURTZ, 1963. Chemical distribution of added nitrogen in soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., Madison, 27:312-316.
- COCHRANE, V.W., 1958. Physiology of Fungi. New York, John Wiley, 524 p.
- DELWICHE, C.C. e B.A. BRYAN, 1976. Denitrification. Ann.Rev. Microbiol., Palo Alto, 30:241-262.

- EVANS, J.O., 1973. Soil as sludge assimilators. Compost Sci., Emmaus, 14(6):16-21.
- IMSHENETSKII, A.A. e B.G. MURZAKOV, 1979. Determination of carbon dioxide envolved from soil of differing moisture. Microbiology (Engl. Transl. Mikrobiologiya), Moscow, 46(6):885-889.
- JENKINSON, D.S., 1966. Studies on the decomposition of plant material in soil. II. Partial sterilization of soil and the soil biomass. J. Soil Sci., London, 17(2):280-302.
- JENKINSON, D.S., 1971. Studies on the decomposition of ¹⁴C labelled organic matter in soil. Soil Sci., Baltimore, 111(1):64-70.
- JENKINSON, D.S., 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. IV. The decomposition of fumigated organisms in soil. Soil Biol. Biochem., Oxford, 8:203-208.
- JENKINSON, D.S. e J.N. LADD, 1981. Microbial biomass in soil: Measurement and turnover. In: Paul, E.A. e J.N. Ladd (eds). Soil Biochemistry. Vol. 5, New York, Marcel Dekker, p. 415-470.
- JENKINSON, D.S. e D.S. POWLSON, 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. Soil Biol. Biochem., Oxford, 8:209-213.
- JOHNSON, L.F.; CURL, E.A.; BOND, J.H. e H.A. FRIBOURG, 1959. Methods for studying soil microflora-plant disease relationship. Minneapolis. BURGESS PUBLISHING COMPANY, p. 23-28.
- KEENEY, D.R.; FILLERY, J.R. e G.P. MARX, 1979. Effect of temperature on the gaseous nitrogen products of denitrification

- in a silt loam soil. Soil Sci. Soc. Am. J., Madison, 43: 1124-1128.
- KNOWLES, R., 1982. Denitrification. Microbiol. Rev., 46(1): 43-70.
- KOWALIK, P.; BARNES, C.J. e D.E. SMILES, 1979. Oxidation of liquid animal wastes in soil. Soil Sci. Soc. Am. J., Madison, 43(2):255-260.
- MALAVOLTA, E., 1976. Manual de Química Agrícola. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, p. 224.
- MCLAREN, A.D., 1969. Radiation as a technique in soil biology and biochemistry. Soil Biol. Biochem., Oxford, 1:63-73.
- ORLANDO Fº, J.; SOUZA, I.C. e E. ZAMBELLO Jr., 1980. Aplicação de vinhaça em soqueiras de cana-de-açúcar: Economicidade do Sistema Caminhões-tanque. Boletim Técnico PLANALSUCAR. Piracicaba, 2(5):5-35.
- PARR, J.F., 1975. Chemical and biological considerations for land application of agricultural land municipal wastes, In: FAO, Organic Materials as Fertilizers, Roma, p. 227-251. (Soils Bulletin, nº 27).
- PATRICK, W.H. Jr. e S. GOTOH, 1974. The role of oxygen in nitrogen loss from flooded soils. Soil Sci., Baltimore, 118(2):78-81.
- POMARES-GARCIA, F. e P.F. PRATT, 1978. Recovery of ¹⁵N-labeled fertilizer from manured and sludge-amended soil. Soil Sci.Soc.Am.J., Madison, 42:717-720,

- PONNAMPERUMA, F.N., 1972. The chemistry of submerged soils. Adv. Agronomy, New York, 24:29-96.
- POWLSON, D.S. e D.S. JENKINSON, 1976. The effects of biocidal treatment on metabolism in soil. II. Gamma irradiation, autoclaving, air-during and fumigation. Soil Biol. Biochem., Oxford, 8:179-188.
- RANZANI, G.; FREIRE, O. e T. KINJO, 1966. Cartas de solos do município de Piracicaba. Piracicaba, Centro de Estudos de Solos, ESALQ, 61 p.
- REDDY, K.R. e W.H. PATRICK Jr., 1977. Effect of placement and concentration of applied NH_4^+ -N on nitrogen loss from flooded soil. Soil Sci., Baltimore, 123(3):142-148.
- REDDY, K.R. e W.H. PATRICK Jr., 1980. Losses of applied ammonium ^{15}N , urea ^{15}N , and organic ^{15}N in flooded soils. Soil Sci., Baltimore, 130(6):326-330.
- REDDY, K.R.; PATRICK Jr, W.H. e R.E. PHILLIPS, 1980. Evaluation of selected processes controlling nitrogen loss in a flooded soil. Soil Sci. Soc. Am. J., Madison, 44:1241-1246.
- RODELLA, A.A. e S.E. FERRARI, 1977. A composição da vinhaça e efeitos de sua aplicação como fertilizante na cana-de-açúcar. Brasil Açúcareiro, São Paulo, (7):380-387.
- RODRIGO, D.M. e A.G. POLLARD, 1962. Chemistry of waterlogged soils. I. Changes in oxidation-reduction potentials of two soils on submergence; influence of pH and organic matter. J. Sci. Food Agric., London, 13:43-48.
- SHEEHAN, G.J. e P.F. GREENFIELD, 1980. Utilization, treatment

- and disposal of distillery wastewater. Water Research, New York, 14:257-277.
- SHIELDS, J.A.; PAUL, E.A. e W.E. LOWE, 1974. Factors influencing the stability of labelled microbial materials in soils. Soil Biol. Biochem., Oxford, 6:31-37.
- SILVA, M.O.S.A., 1977. Análises físico-químicas para controle de estações de tratamento de esgotos. São Paulo, CETESB, p. 32.
- SMID, A.E. e E.G. BEAUCHAMP, 1976. Effects of temperature and organic matter on denitrification in soil. Can.J. Soil Sci., Ottawa, 56:385-391.
- SNEDECOR, G.W. e W.G. COCHRAN, 1980. Statistical Methods. Ames, Iowa, The Iowa State University Press, 7^a ed., 505 p.
- STANFORD, G.; DZIENIA, S. e R.A. VANDER POL, 1975. Effect of temperature on denitrification rate in soils. Soil Sci.Soc. Amer. Proc., Madison, 39:867-870.
- SUZUKI, I., 1974. Mechanisms of inorganic oxidation and energy coupling. Ann.Rev.Microbiol., Palo Alto, 28:85-101.
- TERRY, R.E.; NELSON, D.W. e L.E. SOMMERS, 1979a. Carbon cycling during sewage sludge decomposition in soils. Soil Sci. Soc. Am. J., Madison, 43:494-499.
- TERRY, R.E.; NELSON, D.W. e L.E. SOMMERS, 1976b. Decomposition of anaerobically digested sewage sludge as affected by soil environmental conditions. J.Environ.Qual., Madison 8(3):342-347.

- TRIVELIN, P.C.O.; SALATI, E. e E. MATSUI, 1973. Preparo de amostras para análise de ^{15}N por espectrometria de massa. Piracicaba, CENA, 41 p. Boletim Técnico, nº 003.
- VAZ, C.A.; LOBATO, E.; PEREIRA, G. e J. PEREIRA, 1980. Reciclagem orgânica na Agricultura Brasileira. Brasília, Informativo, SNAP, Informe Especial, nº 1, 37 p.
- WAKSMAN, S.A., 1963. Soil Microbiology. 4^a ed., New York, John Wiley, 356 p.
- WICKRAMASINGUE, K.N. e O. TALIBUDEEN, 1981. Denitrification in a very acid tropical soil, J.Soil Sci., London, 32:119-131.
- WINSOR, G.W. e A.G. POLLARD, 1956,. Carbon-nitrogen relationship soil. I. The immobilization of nitrogen in the presence of carbon compounds. J.Sci,Food Agric., London, 7: 134-141.
- ZBORISHCHUK, N.G., 1979. Certain characteristics of carbon dioxide dynamics in irrigated chernozems in the caucasian foothills. Moscow University Soil Sci. Bulletin, New York, 34 (3):36-40.