

# DISPONIBILIDADE DE NITROGÊNIO E FLUXOS DE N<sub>2</sub>O A PARTIR DE SOLO SOB PASTAGEM APÓS APLICAÇÃO DE HERBICIDA<sup>(1)</sup>

Janaina Braga do Carmo<sup>(2)</sup>, Cristiano Alberto de Andrade<sup>(3)</sup>,  
Carlos Clemente Cerri<sup>(4)</sup> & Marisa de Cássia Piccolo<sup>(4)</sup>

## RESUMO

O óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) é um importante gás do efeito estufa, com um alto potencial de provocar o aquecimento global e de vida longa na atmosfera. Grande parte dos fluxos naturais de N<sub>2</sub>O ocorre a partir dos oceanos, enquanto o restante é resultado principalmente da contribuição de processos microbiológicos (nitrificação e desnitrificação) ocorridos em solos de regiões tropicais. A disponibilidade de N para processos metabólicos dos microrganismos pode ser um importante fator no controle das emissões de N<sub>2</sub>O nesses solos. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de melhorar a compreensão acerca dos controles sobre os fluxos de N<sub>2</sub>O a partir de solos com pastagem na Amazônia. Foram investigados os efeitos da disponibilidade de N, C e umidade na emissão de N<sub>2</sub>O a partir do solo de uma pastagem submetida ou não a práticas para recuperação de sua produtividade. O estudo foi realizado em condições de laboratório, incubando o solo coletado nas seguintes situações: (a) Controle - solo com pastagem estabelecida em 1983 e com manejo tradicional, constituída de uma mistura de *Brachiaria brizantha* e *Panicum maximum*, além da presença de uma variedade de plantas invasoras, e (b) Herbicida - dessecação total das plantas da pastagem estabelecida em 1983, para o plantio direto de arroz e posterior ressemeadura de braquiária. É oportuno ressaltar que as amostras de solo (camada de 0–5 cm) das áreas foram coletadas no terceiro dia após a aplicação do agroquímico. Para o estabelecimento das comparações e compreensão dos controles nos fluxos de N<sub>2</sub>O do solo, foram adicionados ao solo para incubação: nitrato, dextrose e água; além do uso de acetileno para bloquear a oxidação do N<sub>2</sub>O a N<sub>2</sub>, estimulando, assim, a proporção de N<sub>2</sub> que foi emitido do solo. Os maiores fluxos foram observados quando o nitrato foi acrescentado ao solo sob condições de alta umidade. A adição de dextrose (fonte de C) elevou os fluxos de forma mais intensa no solo que recebeu aplicação de herbicida, cuja disponibilidade de N também era maior. Com a aplicação de acetileno foi possível observar que

---

<sup>(1)</sup> Trabalho extraído da Tese de Doutorado do primeiro autor, programa de Solos e Nutrição de Plantas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP). Recebido para publicação em janeiro de 2004 e aprovado em julho de 2005.

<sup>(2)</sup> Doutoranda do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo – CENA/USP. Av. Centenário 303, CEP 13400-970 Piracicaba (SP). E-mail: jbcarmo@cena.usp.br

<sup>(3)</sup> Pesquisador do Instituto Agrônomo de Campinas – IAC. Caixa Postal 28, CEP 13001-970 Campinas (SP). E-mail: andrade@iac.sp.gov

<sup>(4)</sup> Pesquisador do Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA/USP. E-mail: cerri@cena.usp.br

grande parte do N perdido sob formas gasosas ocorre como  $N_2$ . Desse modo, o processo de desnitrificação mostrou-se dominante nos fluxos de  $N_2O$  a partir do solo da pastagem estudada, enquanto o N foi o fator principal no controle desses fluxos.

**Termos de indexação:** óxido nitroso, Amazônia, desnitrificação, fluxo de gases, efeito estufa, aquecimento global.

**SUMMARY:** *NITROGEN AVAILABILITY AND  $N_2O$  FLUXES FROM PASTURE SOIL AFTER HERBICIDE APPLICATION*

*Nitrous Oxide ( $N_2O$ ) plays an important role in the greenhouse effect, owing to its high global warming potential and a long half-life in the atmosphere. A large portion of the natural  $N_2O$  flux is oceanic and the remaining results mainly from the contribution of microbiological processes (nitrification and denitrification) that occur in tropical soils. The availability of nitrogen (N) for metabolic processes by microorganisms may be an important factor controlling  $N_2O$  in such soils. The goal of this study was to improve the understanding of mechanisms controlling  $N_2O$  fluxes from soils under pasture in the Amazon. We investigated the effects of N and carbon (C) availability, and soil moisture on  $N_2O$  emission from two different pastures (with or without treatments for recovery of productivity). The study was developed under laboratory conditions by incubating soil samples from the following pastures: (a) Control - Soil from a traditionally-managed pasture established in 1983 consisting of a mixture of *Brachiaria brizantha* and *Panicum maximum*, besides a type of weed; and (b) Herbicide treated - total desiccation of pasture established in 1983 in preparation for cultivation of no-till rice and posterior grass replanting. It is important to emphasize that soil samples (0–5 cm depth) were collected on the third day after herbicide application. To compare and understand  $N_2O$  fluxes, we added nitrate, dextrose and water to the soil before incubation and used acetylene to block  $N_2O$  oxidation to  $N_2$ , in order to estimate the  $N_2$  emitted from the soil. The highest fluxes were observed when nitrate was added to the soil under high moisture conditions. Dextrose (C source) addition increased fluxes at more extent in the soil from the pasture that received herbicide application and also displayed higher N availability. With acetylene application it was possible to observe that a large portion of N lost in gaseous forms occurs as  $N_2$ . Thus, in the studied pasture the denitrification process appeared to be dominated by  $N_2O$  soil fluxes and N was the main factor controlling these fluxes.*

*Index terms:* nitrous oxide, Amazon, denitrification, gas fluxes, greenhouse effect, global warming.

## INTRODUÇÃO

Gases nitrogenados, principalmente  $N_2O$ , são substâncias que apresentam vida longa na atmosfera, cerca de 150 anos e com grande Potencial de Aquecimento Global (PAG) (Cicerone, 1987; Kim & Craig, 1993). De acordo com Albritton et al. (1996), o PAG do  $N_2O$  é 310 vezes maior que o PAG do  $CO_2$ , convencionado com valor igual a um e considerando um período de 100 anos. A concentração de  $N_2O$  na atmosfera tem aumentado na taxa de 0,25 % ao ano (Prather et al., 2001), sendo os solos tropicais considerados os maiores responsáveis pela emissão de  $N_2O$  em ecossistemas terrestres naturais (Davidson, 1991; Baird, 2002).

O controle da produção de  $N_2O$  por microrganismos desnitrificadores no solo é determinado pelo suprimento de nitrato, CO de fácil assimilação e

status de  $O_2$  no solo (Alexander, 1961; Payne, 1981; Stouthamer, 1988). Os microrganismos desnitrificadores utilizam o N na forma de nitrato como aceptor final de elétrons sob condições anaeróbias (Stouthamer, 1980; Tiedje, 1988).

A conversão de florestas em pastagens aumenta a disponibilidade imediata de N no solo graças à rápida mineralização provocada pelo fogo, por ocasião da queima da biomassa vegetal derrubada, embora parte do N seja perdido sob formas gasosas durante a queima (Fearnside et al., 2001). Aparentemente, pastagens novas liberam quantidades significativas de  $N_2O$ , dependendo do referido aumento na disponibilidade de N para os microrganismos desnitrificadores (Baird, 2002). Com o passar dos anos de exploração dessas pastagens, há redução acentuada na disponibilidade de N no solo (Neill et al., 1995), conforme as perdas

excessivas por lixiviação, que ocorrem graças à quantidade de N disponível no solo superar a demanda das plantas forrageiras. Como consequência, os fluxos de N<sub>2</sub>O também decrescem com o tempo de exploração da pastagem (Melillo et al., 2001).

Quando práticas de manejo são utilizadas visando à melhoria da produtividade e sustentabilidade das pastagens, alterações na disponibilidade de N no solo também podem ocorrer. Além disso, a oferta de CO no sistema, frequentemente afetada pelo manejo, também controla parcialmente a produção de N<sub>2</sub>O no solo, pela ação de microrganismos desnitrificadores que usam formas prontamente lábeis de C (glicose p.e.) como fonte de energia para a produção de N<sub>2</sub>O. O C lábil também exerce influência no terceiro fator de controle da produção de N<sub>2</sub>O mencionado, o status de O<sub>2</sub> no solo, por servir como fonte energética para populações de microrganismos heterotróficos envolvidos na decomposição aeróbia da matéria orgânica do solo (Elmi et al., 2003). Quando a demanda de O<sub>2</sub> por estes microrganismos supera o que está disponível, microssítios anaeróbios são criados, favorecendo a atividade de microrganismos desnitrificadores pela baixa disponibilidade de O<sub>2</sub> (Khalil et al., 2002). Desse modo, a disponibilidade de fonte lábil de C pode incrementar os fluxos de N<sub>2</sub>O a partir do solo por duas vias: a primeira, servindo como substrato energético para os microrganismos desnitrificadores, e a segunda, pela redução da disponibilidade de O<sub>2</sub> no meio.

A aplicação de herbicidas é uma das práticas potenciais que visam recuperar a produtividade de pastagens ou reforma de pastos degradados na Amazônia. O efeito dessa prática sobre os fluxos de N<sub>2</sub>O no solo ainda são pouco conhecidos, porém podem-se esperar alterações na disponibilidade de N aos microrganismos do solo por um período variável, conforme a estratégia de manejo adotada. Quando o herbicida é utilizado para dessecação total da biomassa vegetal, com posterior ressemeadura da forrageira, espera-se, por exemplo, aumento da disponibilidade de N aos microrganismos do solo, pela cessação temporária da absorção do nutriente pelas plantas em senescência. Nesse caso, também existe um grande aporte de C no sistema, constituído pela biomassa radicular e aérea das plantas mortas. O balanço desses fatores, aliado à umidade do solo, irá determinar os fluxos de N<sub>2</sub>O.

Diante do apresentado, os objetivos deste trabalho foram: (a) determinar as alterações na disponibilidade de N no solo de uma pastagem na Amazônia, após aplicação de herbicida para dessecação total das plantas, e (b) sob condições controladas de laboratório, estudar o controle dos fluxos de N<sub>2</sub>O a partir de variações na disponibilidade de N e C e níveis de umidade, bem como estimar as perdas de N do solo na forma de N<sub>2</sub>, provenientes do processo de desnitrificação.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Área de estudo

O estudo foi realizado na Fazenda Nova Vida (10° 10' 05" S e 62° 49' 27" O), município de Ariquemes, no km 472 da BR 364, a aproximadamente 250 km ao Sul da cidade de Porto Velho (RO), Brasil. O solo predominante na fazenda foi classificado como Argissolo (Embrapa, 1999) ou "Ultisol" na 'U.S. Taxonomy' (Moraes et al., 1995), o qual cobre mais de 100 milhões de hectares na Bacia Amazônica brasileira. A temperatura média anual é 25,5 °C. A precipitação anual média é de 2.200 mm (Bastos & Diniz, 1982), com período de quatro a cinco meses de estação seca bem definida durante os meses de junho a setembro.

### Tratamentos e delineamento experimental

O experimento para recuperação da pastagem de baixa produtividade foi instalado em julho de 2001, em área pré-selecionada de 3 ha com pastagem de *Brachiaria brizantha*, estabelecida em 1983. A cobertura nesta área era uma mistura de *Brachiaria brizantha*, *Panicum maximum* e uma variedade de plantas invasoras lenhosas e herbáceas.

Em julho de 2001, a área foi roçada para facilitar a seleção e demarcação das parcelas experimentais. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com parcelas experimentais de 40 x 40 m (1.600 m<sup>2</sup>) e área útil de 30 x 30 m (900 m<sup>2</sup>) cada. Os tratamentos avaliados foram: (a) controle - pasto controle, sem ajustes nem manejo subsequente, e (b) herbicida - aplicação de herbicida dessecante seguida por plantio de arroz, em sistema plantio direto, colheita do arroz, ressemeadura de *Brachiaria brizantha* e fertilização com NPK e micronutrientes. Neste tratamento, foi avaliado apenas o efeito da aplicação de herbicida logo no início da instalação do experimento.

Para efeito de comparações, foi incluída uma pastagem criada em 1987 (P-87), mantida por meio de técnicas de manejo tradicionais da região, bem como uma área de floresta.

### Incubações sob condições controladas de laboratório

O experimento foi realizado de outubro a novembro de 2001. As amostras de solo (0–5 cm de profundidade) foram coletadas no campo e levadas para o laboratório localizado na Fazenda Nova Vida. Posteriormente, as amostras foram passadas em peneira de 4 mm e estocadas em sacos plásticos a 4 °C. As amostras de solo das áreas estudadas foram coletadas no terceiro dia após a aplicação do agroquímico no tratamento Herbicida, respeitando o período de carência para entrada na área (Figura 1).

As incubações foram efetuadas em temperatura ambiente, cujas médias diárias variaram de 25 a 30 °C. Cerca de 25 g de solo fresco foram colocados em frascos de vidro com volume aproximado de 600 mL. Cada frasco foi vedado com uma tampa, que apresentava um orifício central, de modo a permitir o encaixe perfeito de uma rolha de silicone. Esta rolha, também perfurada, encerrava um adaptador com sistema de abertura e fechamento manual, tipo torneira, para o acoplamento de seringas de 10 mL, também equipadas com torneiras compatíveis com os frascos, permitindo a coleta dos gases (Figura 2).

Foram testados três fatores prováveis controladores do fluxo de  $N_2O$  a partir do solo, a saber: umidade do solo, disponibilidade de N e disponibilidade de C, que foram testados de acordo com:

- Umidade do solo: o efeito da umidade do solo foi testado, adicionando-se de 2 a 3 mL de água deionizada nas amostras, de modo a atingir um valor correspondente a 30 % de umidade. A quantidade de água adicionada foi calculada de acordo com a umidade natural das amostras, determinada previamente.
- Disponibilidade de N: a disponibilidade de N foi medida com a adição de  $N-NO_3^-$ , utilizando-se solução de  $KNO_3$  2 g  $L^{-1}$  para aumentar a concentração inicial de  $N-NO_3^-$  (Quadro 2) de 0,2-5  $\mu g\ g^{-1}$  de N (base seca) para 80  $\mu g\ g^{-1}$  de N (base seca). Para isso, foram adicionados diretamente ao solo dentro dos frascos cerca de 2 a 3 mL de solução  $KNO_3$ .
- Disponibilidade de C: o efeito da disponibilidade de C foi avaliado mediante a aplicação de solução de dextrose (12,5 g  $L^{-1}$ ), em volume necessário para o fornecimento adicional de aproximadamente 5 mg  $g^{-1}$  de C em base seca.



**Figura 1.** Aspecto geral da pastagem instalada em 1983 após dessecação total com herbicida em outubro de 2001, no momento em que as amostras de solo foram coletadas.



**Figura 2.** Frascos utilizados nas incubações para coleta de  $N_2O$ .

Também foram realizadas incubações dos solos nas condições de campo, tal qual no momento da coleta, isto é, sem adição de água, dextrose, nitrato ou acetileno. No quadro 1, estão assinalados os testes realizados nos tratamentos durante as incubações já descritas anteriormente.

Cabe ressaltar que a adição de nitrato e C às amostras de solo incubadas não teve como objetivo simular situações reais de adubação. As fontes foram adicionadas em excesso (cerca de 20 vezes os teores naturais do solo) para melhor evidenciar o funcionamento dos processos controladores dos fluxos de  $N_2O$  do solo. Este estudo está de acordo com Nobre et al. (2001) e com incubações semelhantes realizadas por Khalil et al. (2002) e D'Haene et al. (2003).

Para estimar a quantidade perdida de N sob a forma de  $N_2$ , foram utilizados 10 KPa de acetileno ( $C_2H_2$ ) para bloquear a redução de  $N_2O$  a  $N_2$  (Yoshinari & Knowles, 1976; Tiedje, 1982), com isso, é esperada uma quantidade maior de  $N_2O$  nos tratamentos com aplicação de  $C_2H_2$ . Esta quantidade de  $C_2H_2$  tem demonstrado eficiência na inibição da nitrificação autotrófica (Hynes & Knowles, 1982) e na redução de  $N_2O$  a  $N_2$  pela ação de bactérias desnitrificadoras (Yoshinari et al., 1977), como exemplificado na figura 3. Os frascos com adição de acetileno foram pré-incubados por quatro horas, e posteriormente, abertos durante uma hora para permitir trocas gasosas, e, novamente, fechados, iniciando a contagem do período de incubação. O acetileno utilizado foi purificado por meio da passagem por um filtro de carvão ativado, antes de ser injetado dentro dos frascos.

Todos os tratamentos foram montados com quatro repetições.

No mesmo dia em que o solo foi coletado para a realização das incubações, subamostras foram separadas para determinação das concentrações de  $N-NH_4^+$ ,  $N-NO_3^-$ , taxas líquidas de mineralização e nitrificação e avaliação da nitrificação potencial do solo.

A produção de N<sub>2</sub>O em cada frasco incubado foi avaliada durante um período aproximado de 0–120 min, sendo a maioria das coletas dos gases realizadas nos tempos 0; 30; 60; 90 e 120 min. As análises foram realizadas num período máximo de 10 h após a coleta. As concentrações de N<sub>2</sub>O foram medidas em cromatógrafo gasoso com detector de captura de elétrons (Mini Shimadzu-2) mantido em temperatura de 310 °C (Bowden et al., 1990; Steudler et al., 1991). A amostragem para medir a concentração de N<sub>2</sub>O no tempo zero foi realizada com os frascos abertos, antes de iniciar as incubações, e, somente então, os frascos foram devidamente fechados. Os fluxos de N<sub>2</sub>O foram estimados pela alteração da concentração do gás dentro de cada frasco. No final de cada incubação, foi determinada a umidade gravimétrica do solo contido nos frascos (secagem a 105 °C até peso constante). A concentração final dos fluxos foi calculada por regressão para os

valores medidos nos tempos de incubação. A concentração final foi determinada, considerando a porção linear da curva.

A concentração inicial do N-inorgânico (Quadro 2) foi obtida após extração feita com solução de KCl 2 mol L<sup>-1</sup> e 10 g de terra, sendo as concentrações de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> determinadas no extrato, usando-se um sistema automático de injeção de fluxo contínuo (FIA) (Ruzicka & Hansen, 1981). O N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> foi medido por condutivimetria, pelo método de Solorzano, e o N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> foi determinado colorimetricamente na forma de N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, após a redução em coluna de Cd.

As taxas líquidas de mineralização do N foram calculadas pela diferença entre as concentrações de N-inorgânico (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) após sete dias de incubação e no dia zero. De modo semelhante, as taxas líquidas de nitrificação correspondem às diferenças entre os teores finais e iniciais de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Piccolo et al., 1994).

A determinação da nitrificação potencial foi feita a partir de subamostras de 20 g de solo fresco que foram acondicionados em copos de plástico, com posterior adição de 100 mL de solução-tampão de fosfato (pH 7,2), enriquecido com 0,2 mL de sulfato de amônio (Schimel et al., 1984) e 0,5 mL de cloreto de sódio, para inibir a oxidação quimioautotrófica de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> para NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Figura 3). Os copos foram, então, colocados para agitar e, após 0, 2, 4, 6 e 8 h de incubação, foram coletados 5 mL de solução com auxílio de seringa. As amostras filtradas e preservadas com fenil acetato de mercúrio foram enviadas para o Laboratório de Biogeoquímica Ambiental do CENA/USP, onde o teor de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> foi determinado colorimetricamente na forma de N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, após a redução em coluna de Cd.

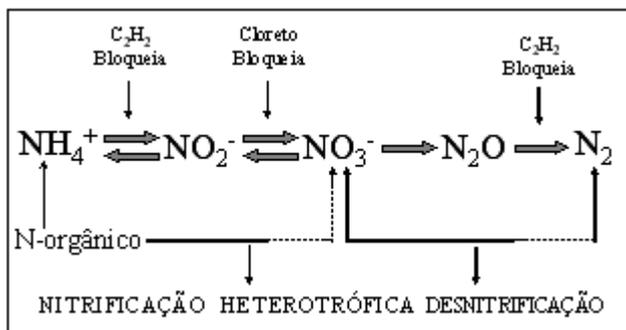


Figura 3. Representação esquemática da ação do acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) e do cloreto bloqueando a nitrificação autotrófica do solo e atuação do acetileno evitando a redução do N<sub>2</sub>O a N<sub>2</sub>.

Quadro 1. Descrição das condições em que os testes foram realizados em cada experimento, com os respectivos objetivos

Condição avaliada	Tratamento <sup>(1)</sup>				Objetivo
	Floresta	P-87	Controle	Herbicida	
Ambiente	X	X	X	X	Verificar as perdas de N <sub>2</sub> O em condição de campo
30 % umidade		X	X	X	Avaliar o efeito da umidade do solo nas perdas de N <sub>2</sub> O
Adição de N+30 % umidade		X	X	X	Medir as perdas de N <sub>2</sub> O com N disponível na presença de umidade
Adição de C+30 % umidade			X	X	Verificar o papel do C para microrganismos desnitrificadores
Adição de C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> +30 % umidade		X	X	X	Avaliar as perdas de N na forma de N <sub>2</sub>
Adição de N +30 % umidade+C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>		X			Avaliar as perdas de N na forma de N <sub>2</sub> na presença de N disponível

<sup>(1)</sup> Solos coletados em áreas sob: floresta (Floresta); pastagem estabelecida em 1987 (P-87); pastagem de baixa produtividade instalada em 1983 (Controle); e pastagem de baixa produtividade instalada em 1983 e três dias após aplicação de herbicida para dessecação total das plantas.

**Quadro 2. Teores de nitrato e amônio, índices de disponibilidade de nitrogênio e fluxo de N<sub>2</sub>O dos solos sob floresta e pastagem, com e sem aplicação de herbicida**

Variável	Área estudada			
	Floresta	P-87	Controle	Herbicida
	µg g <sup>-1</sup> de N no solo			
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	4,83 ± 1,39	4,6 ± 1,65	3,93 ± 0,92	7,55 ± 0,63
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	4,21 ± 0,26	2,41 ± 2,95	0,18 ± 1,87	0,51 ± 0,27
	µg g <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> de N no solo			
Taxa de mineralização	0,19 ± 0,08	0,05 ± 0,54	0,17 ± 0,21	0,31 ± 0,20
Taxa de nitrificação	0,59 ± 0,04	0,29 ± 0,38	0,02 ± 0,03	0,49 ± 0,17
	µg g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> de N no solo			
Nitrificação potencial	1,12 ± 0,68	0,06 ± 0,25	-1,11 ± 0,30	-0,08 ± 0,06
	µg m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup> de N no solo			
Fluxo de N <sub>2</sub> O	53,36 ± 11,25	2,18 ± 0,85	3,03 ± 1,13	8,38 ± 3,67

A nitrificação potencial foi calculada por meio de regressão linear dos teores de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> extraídos do solo de acordo com os tempos de incubação. O valor da nitrificação potencial em mg g h<sup>-1</sup> foi correspondente à inclinação da curva.

### Forma de análise dos resultados

Os resultados dos fluxos de N<sub>2</sub>O dos tratamentos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida pela comparação das médias pelo teste de Tukey (5 %).

Correlações estatísticas foram realizadas entre as variáveis determinadas por ocasião da coleta das amostras de terra (condição inicial). O pacote estatístico utilizado foi o SYSTAT 9.0 (SAS, 1999).

## RESULTADOS

Os resultados da condição inicial dos solos revelaram N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e taxa de mineralização líquida do N superiores nos tratamentos Herbicida e Floresta, em comparação com as pastagens: Controle e P87 (Quadro 2). Estes resultados são pertinentes, uma vez que, no momento da coleta do solo, as plantas estavam sob ação do herbicida aplicado que provocou a senescência das mesmas (Figura 1) e, portanto, a absorção de N estava por hora limitada, havendo maior disponibilidade do nutriente no solo.

No solo da floresta, as concentrações de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> foram semelhantes, ao passo que, nas pastagens, de maneira geral, a quantidade de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> foi sempre superior à de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Quadro 2). Proporções desequilibradas entre N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>

em solos de pastagens na Amazônia e, em particular, nas pastagens mais velhas da Fazenda Nova Vida são reportadas em outros trabalhos (Piccolo et al., 1994; Neill et al., 1995, 1997). Os fluxos de N<sub>2</sub>O nos cenários avaliados obedeceram à seguinte ordem decrescente: Floresta > Herbicida > Pastagens (P-87 e Controle). Isso foi indicativo da possibilidade do fluxo de N<sub>2</sub>O estar relacionado com a disponibilidade de N no solo (Quadro 2), confirmado posteriormente pelas correlações estatísticas (Quadro 3), em que o teor de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e a nitrificação potencial correlacionaram satisfatoriamente (p = 0,20) com os valores de fluxo de N<sub>2</sub>O, dada a variabilidade intrínseca a essas medidas.

Considerando aos valores do potencial de nitrificação dos solos, verificou-se que estes foram muito baixos nas pastagens e superiores na Floresta (Quadro 2), embora tenham se correlacionado satisfatoriamente (p = 0,12) com os teores de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> medidos (Quadro 3).

Poucos são os trabalhos que avaliaram a nitrificação potencial em solos da Amazônia, tanto sob florestas como sob pastagens. De acordo com Verchot et al. (1999), estes valores baixos de potencial de nitrificação podem explicar as também baixas concentrações de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> nos solos sob pastagem, o que, provavelmente, deve ocorrer em virtude da existência de poucos microrganismos nitrificadores nessas condições. Além disso, outros fatores podem limitar o processo de nitrificação no solo, como, por exemplo, a existência de micro-sítios anaeróbios (Khalil et al., 2002) ou, então, a alta atividade respiratória do sistema radicular das gramíneas.

As incubações realizadas com solos da pastagem criada em 1987 (P-87) e manejada de forma

**Quadro 3.** Valores de coeficiente de correlação e entre parênteses o nível de significância (p) das correlações estatísticas entre os resultados médios dos teores de nitrato e amônio, índices de disponibilidade de N e fluxo de N<sub>2</sub>O do solo, medidos por ocasião do levantamento inicial das condições das áreas amostradas. Valores em negrito foram significativos a 20 % de probabilidade (p = 0,20)

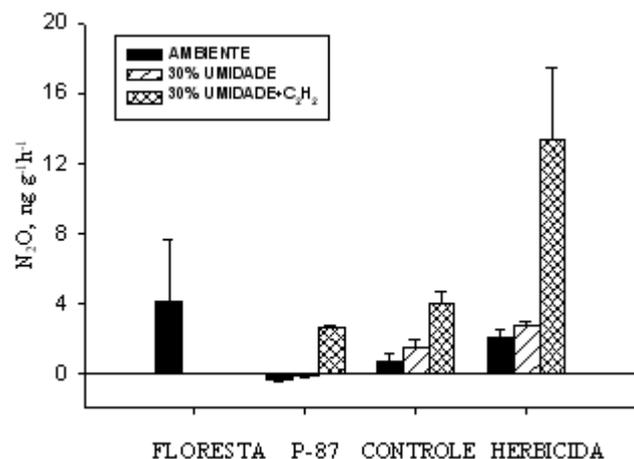
	N-inorgânico	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nitrificação potencial	Taxa de nitrificação	Taxa de mineralização
N <sub>2</sub> O	0,670 (0,330)	-0,060 (0,938)	<b>0,816 (0,185)</b>	<b>0,989 (0,008)</b>	0,702 (0,298)	0,167 (0,825)
N-inorgânico	--	0,529 (0,528)	0,689 (0,311)	0,631 (0,370)	<b>0,990 (0,007)</b>	0,273 (0,722)
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	--	--	-0,250 (0,744)	-0,183 (0,809)	0,578 (0,423)	0,771 (0,230)
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	--	--	--	<b>0,876 (0,124)</b>	0,636 (0,365)	-0,346 (0,651)
Nitrificação potencial	--	--	--	--	0,645 (0,355)	0,019 (0,979)
Taxa de nitrificação	--	--	--	--	--	0,395 (0,604)

tradicional praticamente não revelaram fluxo de N<sub>2</sub>O, cujos valores medidos foram negativos (Figura 4). O fluxo foi semelhante nas três condições avaliadas: com valores de -0,33 ng g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> de N-N<sub>2</sub>O, no tratamento com solo em condição ambiente; de -0,07 ng g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> de N-N<sub>2</sub>O, no solo úmido, e de -0,15 ng g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> de N-N<sub>2</sub>O, no solo úmido e com aplicação de acetileno.

Nos solos da pastagem-controle, os fluxos foram de 0,73 ng g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> de N-N<sub>2</sub>O no solo em condição ambiente; de 1,50 ng g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> de N-N<sub>2</sub>O, no solo úmido, e de 3,99 ng g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> de N-N<sub>2</sub>O, no solo úmido e com aplicação de acetileno. Esses valores foram superiores aos encontrados para a P-87 (Figura 4).

Os maiores fluxos de N<sub>2</sub>O nessas três condições estudadas (solo seco, solo úmido e solo úmido com aplicação de acetileno) foram obtidos nos solos da pastagem que recebeu aplicação de herbicida (Figura 4), concordando com a maior disponibilidade de N no solo, em particular de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, o que concorda com a correlação inicial entre os valores dessa espécie química de N e o fluxo de N<sub>2</sub>O (Quadro 3). Nesse solo, o fluxo médio de N<sub>2</sub>O no tratamento com 30 % de umidade foi igual a 3,8 ng g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> de N<sub>2</sub>O, ao passo que, após a adição de acetileno, foi verificado um fluxo de 13,36 ng g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> de N<sub>2</sub>O, mostrando que cerca de 72 % da produção total dos gases nitrogenados foram liberados na forma de N<sub>2</sub>.

Nas incubações realizadas com o solo da floresta (Floresta), o fluxo de N<sub>2</sub>O em condição ambiente foi maior que nos demais tratamentos, por ser a disponibilidade de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no solo da floresta superior à dos solos com pastagens (Quadro 2). Desse modo, é provável que os fluxos de N<sub>2</sub>O na floresta sejam mais elevados que nas pastagens (Figura 4), considerando a maior disponibilidade de N em formas nítricas e melhores condições para que o processo de desnitrificação do solo ocorra (Garcia-Montiel et al., 2003).



**Figura 4.** Variação nos fluxos de N<sub>2</sub>O a partir dos solos da Floresta sob condição ambiente, pastagem instalada em 1987 (P-87), pastagem-controle e da área tratada com herbicida em condições de solo seco, úmido e tratamento com acetileno.

Com a adição de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> ao solo da pastagem instalada em 1987 (P-87), fluxos de N<sub>2</sub>O só foram observados quando o solo estava úmido ou quando tratado com acetileno (Figura 5). Fluxos mais elevados foram obtidos, quando o N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> foi adicionado de forma combinada com a adição de acetileno (Figura 5).

A adição de dextrose incrementou a produção de N<sub>2</sub>O, tanto no solo da pastagem-controle, como no solo da pastagem que recebeu aplicação de herbicida (Figura 6). Além disso, os tratamentos que receberam exclusivamente dextrose apresentaram maiores fluxos, quando comparados com aqueles que receberam apenas N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Figura 5). O maior efeito da adição de dextrose foi observado no solo da

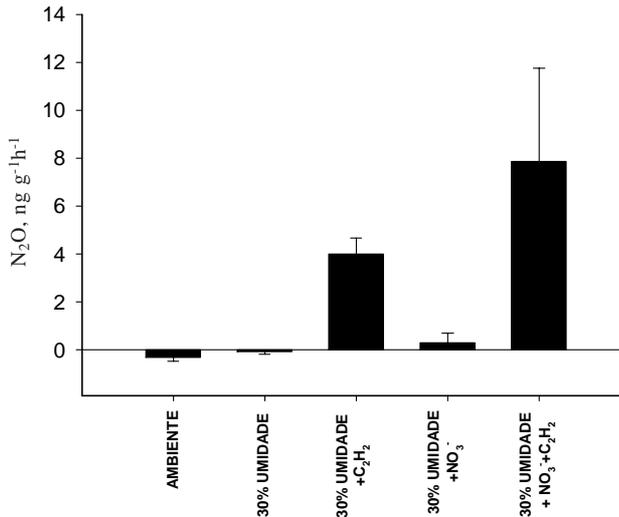


Figura 5. Variação no fluxo de N<sub>2</sub>O do solo coletado sob pastagem instalada em 1987 (P-87), sob dois níveis de umidade do solo (natural e 30 %), adição de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e tratamento com acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>).

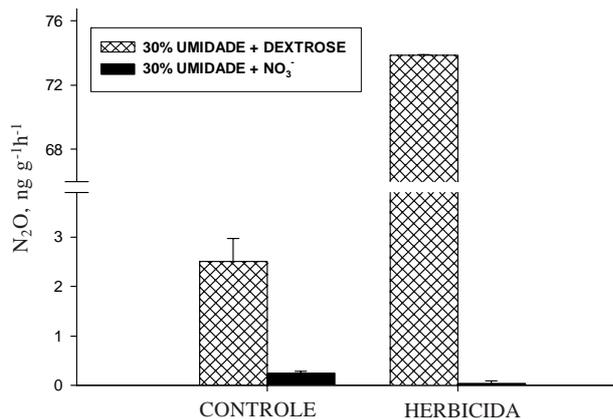


Figura 6. Variação no fluxo de N<sub>2</sub>O após adição de dextrose e nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) nos solos da pastagem-controle e nos solos da pastagem que receberam aplicação de herbicida.

pastagem que recebeu aplicação de herbicida, evidenciando, novamente, o papel da maior disponibilidade de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> nesse tratamento (Quadro 2). A adição de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> promoveu maiores fluxos de N<sub>2</sub>O no solo da pastagem-controle, comparado ao solo do tratamento Herbicida (Figura 6).

## DISCUSSÃO

Várias foram as evidências que indicaram ser o processo de desnitrificação o maior responsável pelas perdas de N<sub>2</sub>O nos tratamentos avaliados. Tanto o

suprimento de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> como a umidade do solo foram necessários, para que incrementos nos fluxos de N<sub>2</sub>O fossem produzidos, além do que nos tratamentos com acetileno foram verificadas elevadas perdas de N na forma de N<sub>2</sub>, proveniente do processo de desnitrificação. Praticamente não houve fluxo de N<sub>2</sub>O em condições de baixa umidade do solo. Nobre et al. (2001), estudando os fluxos de N<sub>2</sub>O em condições semelhantes, observaram que a produção de N<sub>2</sub>O é menor em solo com baixa umidade, mesmo após adição de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> na ausência de água (D'Haene et al. 2003). Somente quando o solo estava úmido é que houve emissão do gás estudado. Além disso, o enriquecimento do solo com N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> incrementou imediatamente a produção de N<sub>2</sub>O, enquanto a adição de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> promoveu aumentos nos fluxos somente após 120 min de incubação, presumindo que esse tempo foi necessário para que ocorresse a nitrificação e somente então o NO<sub>3</sub><sup>-</sup> produzido foi disponibilizado para que o processo de desnitrificação viesse a acontecer.

Com relação à umidade do solo, de acordo com o modelo proposto por Davidson et al. (2000), a nitrificação contribui com quantidades significativas de N<sub>2</sub>O quando o solo apresenta "water-filled pore space" (WFPS) menor que 60 %, sendo previsto um declínio no fluxo de N<sub>2</sub>O com valores de WFPS a partir de 70-80 %. No entanto, em outros estudos, como o de Veldkamp et al. (1998), foram medidas perdas de N<sub>2</sub>O com WFPS acima de 75 %, em vários locais nos trópicos, incluindo áreas com pastagens, cana-de-açúcar e plantações de banana. Conforme o estudo de Aulakh et al. (1992), o processo de desnitrificação somente ocorre se o WFPS for maior que 60 %. No estudo de Khalil et al. (2002), os maiores picos de N<sub>2</sub>O foram detectados com valores de WFPS entre 60 e 80 %, sendo as concentrações de N-N<sub>2</sub>O iguais a 39,0 ± 20,0 e 37,0 ± 7,0 μg kg<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, respectivamente, e entre 70-90 % por Pinto et al. (2004), avaliando o efeito da gradagem nos fluxos de N<sub>2</sub>O.

Contudo, é preciso considerar que, em solos incubados, a saturação do solo ocorre de forma diferente ao que se verifica no campo. Estudos feitos no campo são influenciados por extrema variabilidade temporal e espacial que resulta em distribuição não-homogênea do conteúdo de água no solo, C e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> disponível (Luo et al., 2000).

Os resultados indicam forte limitação de N para a produção de N<sub>2</sub>O nos solos sob pastagens na Amazônia e que não sofreram nenhuma prática de manejo. Isto é consistente com os relatos de baixos fluxos de N<sub>2</sub>O a partir de solos sob pastagens em diversos locais nesta região (Garcia-Montiel et al., 2003). As pastagens da Amazônia apresentam concentrações tipicamente baixas de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no solo, bem como baixas taxas de mineralização e nitrificação líquida do N. Gramíneas, como as braquiárias, apresentam altas taxas de crescimento e são

eficientes na absorção de N (Neill et al., 1997). Alguns autores, tais como Neill et al. (1995, 1997) e Verchot et al. (1999), mostraram que a quantidade de N que cicla nas pastagens é bem menor quando comparadas com valores observados nas florestas. A mesma pastagem do presente estudo revelou, em trabalhos anteriores, baixas taxas de emissão de N<sub>2</sub>O medidos no campo (Verchot et al., 1999; Garcia-Montiel et al., 2001; Melillo et al., 2001).

Resultados semelhantes, tanto no declínio da disponibilidade de N quanto no decréscimo das emissões de N<sub>2</sub>O em pastagens mais velhas, comparadas com florestas, têm sido repetidamente relatados (Keller et al., 1993; Reiners et al., 1994; Neill et al., 1997). O menor efeito relativo da adição de dextrose na produção de N<sub>2</sub>O no solo da pastagem-controle, em relação ao Herbicida, é pertinente à resposta da adição de glicose observada em incubações laboratoriais de solos de pastagens da Costa Rica (Parsons et al., 1993).

Este resultado evidencia a existência de um suprimento adequado de C lábil da matéria orgânica do solo e, ou, proveniente dos exsudados das raízes das gramíneas, nos solos com pastagens. Na pastagem que recebeu aplicação de herbicida (Figura 6), os fluxos foram maiores, quando a dextrose foi adicionada, porque, nesse caso, havia suprimento adequado de N aos microrganismos desnitrificadores (Quadro 2). Isto também pode ser um indício de que tanto a disponibilidade de C, como a de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> podem estar limitando a produção de N<sub>2</sub>O pelo processo de desnitrificação. De acordo com Aulakh et al. (1992), a desnitrificação depende da concentração de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e de C-orgânico do solo e D'Haene et al. (2003) encontraram uma grande correlação entre o potencial de desnitrificação do solo e o suprimento de N e C em condições laboratoriais.

Muitos são os trabalhos que utilizam fontes lábeis de C (glicose e dextrose) como substrato energético para microrganismos (Khalil et al., 2002; D'Haene et al., 2003). Contudo, o enriquecimento do solo com essas formas de C pode promover uma condição de anaerobiose do meio, decorrente de altas taxas de respiração dos microrganismos, promovidas pela adição do substrato extremamente lábil (Khalil et al., 2002).

O acréscimo nas emissões de N<sub>2</sub>O nos tratamentos com acetileno mostram que grande parte dos gases nitrogenados são perdidos na forma de N<sub>2</sub>, sendo, portanto, o processo de desnitrificação responsável por essas perdas, bem como também pelas perdas de N<sub>2</sub>O, conforme pode ser verificado com as diferenças entre os fluxos deste gás nos tratamentos Controle e Herbicida (Figuras 4 e 6). É preciso considerar, no entanto, que diferentes sistemas podem apresentar limitações variáveis, dependendo do manejo adotado. Por exemplo, trabalhos de campo e incubações, visando ao efeito

da gradagem nas emissões de N<sub>2</sub>O, evidenciaram que a adição de C juntamente com acetileno incrementou a produção de N<sub>2</sub>O no tratamento-controle, comparado com o tratamento que recebeu apenas o C, indicando quantidades significativas (60–98 %) do total dos gases são disponibilizadas na forma de N<sub>2</sub> (Davidson, 1991; Drury et al., 1992; Potter et al., 1996; Merino et al., 2001), o que concorda com os resultados aqui apresentados.

Por outro lado, Elmi et al. (2003) observaram que a adição de C e acetileno no solo gradeado também aumentou o fluxo de N<sub>2</sub>O, mas a proporção total de N<sub>2</sub> foi menor porque a produção de N<sub>2</sub>O no solo gradeado e enriquecido apenas com C foi maior. É provável que isto seja devido ao fato de a gradagem promover melhores condições para que predomine no solo o processo de nitrificação e não o de desnitrificação. Ainda nesse mesmo estudo, os autores observaram que o fluxo de N<sub>2</sub>O aumentou brevemente quando se promoveu a adição de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e acetileno, tanto em solo gradeado, como no solo-controle, em comparação ao fluxo medido com adição exclusiva de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, permitindo concluir que o N<sub>2</sub>O foi produzido no processo de desnitrificação a partir do N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> adicionado.

Experimentos em condições de campo nas pastagens da Fazenda Nova Vida também mostram que as emissões de N<sub>2</sub>O das pastagens são limitadas pela disponibilidade de N e que o N<sub>2</sub>O somente é produzido quando o solo está sob condições de umidade suficiente para permitir desnitrificação. A aplicação de 42 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, nesta mesma pastagem, promoveu emissões de N<sub>2</sub>O 59 vezes superiores ao medido no controle, sendo os maiores valores obtidos imediatamente após ocorrência de chuva no local do experimento (Passianoto et al., 2003).

Resultados semelhantes foram observados por Steudler et al. (2002) um dia após a fertilização com 100 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de N na forma de NaNO<sub>3</sub> em condições de alta umidade do solo, obtendo emissões 18 vezes maiores que os fluxos encontrados no controle (p = 0,005). Emissões de N<sub>2</sub>O no período seco nesta pastagem e em outras pastagens estabelecidas na Nova Vida variam, na maioria das vezes, de -10 a 20 µg m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup> de N (Garcia-Montiel et al., 2001; Melillo et al., 2001; Passianoto et al., 2003). Experimentos com solo irrigado em duas pastagens da Nova Vida durante um período muito seco do ano produziram pequenos incrementos nos fluxos de N<sub>2</sub>O, passando de 10,2 para 30,6 µg m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>, vinte minutos após a adição de água, tendo retornado aos valores iniciais 5 h depois (Garcia-Montiel et al., 2003). Estes resultados são consistentes com os do presente estudo, cujos maiores fluxos de N<sub>2</sub>O foram medidos quando o solo apresentava condição caracterizada por alta umidade e disponibilidade de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

Com relação ao potencial de nitrificação dos solos em questão, aparentemente os dados permitem afirmar que este potencial é realmente baixo em solos sob pastagem na Amazônia. Verchot et al. (1999) atribui este fato à existência de uma pequena comunidade microbiana nitrificadora presente nesse tipo de ambiente. Além disso, a falta de correlação com os fluxos de gases neste sistema pode ser atribuída a outros fatores inerentes ao solo, tais como: temperatura, pH, estrutura dos agregados e, até mesmo, a falta de sincronismo entre o momento em que os processos de mineralização e nitrificação estão ocorrendo e o período em que os gases são emitidos do solo; tudo isso desconsiderando a absorção pelas plantas e a ciclagem dos nutrientes no solo.

### CONCLUSÕES

1. Práticas agrícolas que visavam à recuperação e, ou, reforma de pastagens na região amazônica alteraram os fluxos de N no solo.

2. A umidade do solo e a disponibilidade de nitrato foram essenciais para que ocorressem perdas de N na forma de  $N_2O$ .

3. O processo de desnitrificação foi predominante na emissão de  $N_2O$  destas pastagens.

4. Grande parte do N perdido pela emissão dos gases foi na forma de  $N_2$ .

5. O N na forma de nitrato foi o principal limitante na emissão de  $N_2O$  a partir de solos com pastagem.

6. A disponibilidade de fonte lábil de C foi um fator importante no controle dos fluxos de  $N_2O$  dos solos de pastagem, porém sua expressão esteve relacionada com a disponibilidade primeira de nitrato no solo.

### AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, a National Aeronautics and Space Administration e a Dow Agrociências, pelo suporte financeiro à pesquisa. Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), Piracicaba (SP) e The Marine Biological Laboratory, Woods Hole, MA, USA, pelo suporte acadêmico. À CAPES, pela concessão de Bolsa; à família Arantes, pelo suporte logístico e permissão para trabalhar na Fazenda Nova Vida; aos técnicos da EMATER em Rondônia (Gilmar Dri e Newton Soares), a Diana Garcia-Montiel, pela grande contribuição na obtenção e análise dos dados, e a toda equipe do Laboratório de Biogeoquímica Ambiental do CENA/USP, em

Piracicaba (SP), pelo auxílio nas atividades de campo e laboratório.

### LITERATURA CITADA

- ALBRITTON, D.; DERWENT, R.; ISAKSEN, I.; LAL, M. & WUEBBLES, D. Radioactive forcing of climate change. In: HOUGHTON, J.T.; DING, Y.; GRIGGS, D.J.; NOGUER, M.; VAN DER LINDEN, P.J. & XIAOSU, D., eds. Climate change 1995. The science of climate change. New York, Cambridge University Press, 1996. p.118-131.
- ALEXANDER, M. Introduction to soil microbiology. New York, John Wiley, 1961. 472p.
- AULAKH, M.S.; DORAN, J.W. & MOSIER, A.R. Soil denitrification - significance, measurement, and effects of management. *Adv. Soil Sci.*, 18:1-57, 1992.
- BAIRD, C. Química Ambiental. Porto Alegre, Bookman, 2002. 622p.
- BASTOS, T.X. & DINIZ, T.D.A.S. Avaliação de clima do Estado de Rondônia para desenvolvimento agrícola. Belém: Embrapa, CPATU, 1982. 82p. (Boletim de Pesquisa, 44)
- BOWDEN, R.D.; STEUDLER, P.A.; MELILLO, J.M. & ABER, J.D. Annual nitrous oxide fluxes from temperate forest soils in the northeastern United States. *J. Geophys. Res.*, 95:997-1005, 1990.
- CICERONE, R.J. Changes in stratospheric ozone. *Science*, 237:35-42, 1987.
- DAVIDSON, E.A. Fluxes of nitrous oxide and nitric oxide from terrestrial ecosystems. In: ROGERS, J.E. & WHITMAN, W.B., eds. Microbial production and consumption of greenhouse gases: Methane, nitrogen oxides and halomethanes. Washington, American Society for Microbiology, 1991. p.219-235.
- DAVIDSON, E.A.; KELLER, M.; ERICKSON, H.E.; VERCHOT, L.V. & VELDKAMP, E. Testing a conceptual model of soils emissions of nitrous and nitric oxides. *BioSci.*, 50:667-680, 2000.
- D'HAENE, K.; MOREELS, E.; De NEVE, S.; DAGUILAR, B.C.; BOECKY, P.; HOFMAN, G. & CLEEMPUT, O.V. Soil properties influencing the denitrification potential of Flemish agricultural soils. *Biol. Fertil. Soils*, 38:358-366, 2003.
- DRURY, C.F.; MCKENNEY, D.J. & FINDLAY, W.I. Nitric oxide and nitrous oxide production from soil: Water and oxygen effects. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 56:766-770, 1992.
- ELMI, A.A.; MADRAMOOTOO, C.; HAMEL, C. & LIU, A. Denitrification and nitrous oxide to nitrous oxide plus dinitrogen ratios in the soil profile under three tillage systems. *Biol. Fert. Soils*, 38:340-348, 2003.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Sistema brasileiro de classificação de solos. Rio de Janeiro, 1999. 412p.
- FEARNSIDE, P.M.; GRAÇA, P.M.L.A. & RODRIGUES, F.J.A. Burning of Amazonian rainforest: Burning efficiency and charcoal formation in forests cleared for cattle pasture near Manaus, Brazil. *For. Ecol. Manag.*, 146:115-128, 2001.

- GARCIA-MONTIEL, D.C.; STEUDLER, P.A.; PICCOLO, M.; NEILL, C.; MELILLO, J. & CERRI, C.C. Nitrogen oxide emissions following wetting of dry soils in forest and pastures in Rondônia, Brazil. *Biogeochem.*, 64:319-336, 2003.
- GARCIA-MONTIEL, D.C.; STEUDLER, P.A.; PICCOLO, M.C.; MELILLO, J.M.; NEILL, C. & CERRI, C. Controls on soil nitrogen oxide emissions from forest and pasture in the Brazilian Amazon. *Global Biogeochem. Cycles*, 15:1021-1030, 2001.
- HYNES, R.K. & KNOWLES, R. Effects of acetylene on autotrophic and heterotrophic nitrification. *Can. J. Microbiol.*, 28:334-340, 1982.
- KELLER, M.; VELDKAMP, E.; WEITZ, A.M. & REINERS, W.A. Effect of pasture age on soil trace-gas emissions from a deforested area of Costa Rica. *Nature*, 365:244-246, 1993.
- KHALIL, M.I.; ROSENANI, A.B.; van CLEEMPUT, O.; BOECKX, P.; SHAMAHUDDIN, J. & FAUZIAH, C.I. Nitrous oxide production from an Ultisol of the humid tropics treated with different nitrogen sources and moisture regimes. *Biol. Fertil. Soils*, 36:59-65, 2002.
- KIM, K.R. & CRAIG, H. Nitrogen-15 and oxygen-18 characteristics of nitrous oxide: A global perspective. *Science*, 262:1855-1857, 1993.
- LUO, J.; TILLMAN, R.W. & BALL, P.R. Nitrogen losses through denitrification in a soil under pasture in New Zealand. *Soil Biol. Biochem.*, 32:897-903, 2000.
- MELILLO, J.M.; STEUDLER, P.A.; FEIGL, B.J.; NEILL, C.; GARCIA, D.; PICCOLO, M.C.; CERRI, C. & TIAN, H. Nitrous oxide emissions from forests and pasture of various ages in the Brazilian Amazon. *J. Geophys. Res.*, 106:179-188, 2001.
- MERINO, P.; ESTAVILLO, J.M.; BESGA, G.; PINTO, M. & GONZÁLEZ-MURUA, C. Nitrification and denitrification derived N<sub>2</sub>O production from grassland soil under application of DCD and acilith F2. *Nut. Cycling Agroecosys.*, 60:9-14, 2001.
- MORAES, J.F.L.; CERRI, C.C.; MILILLO, J.M.; KcKLIGHTER, D.; NEILL, C.; SKOLE, D.L. & STENDLER, P.A. Soil carbon stocks of the Brazilian Amazon Baun. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 59:244-247, 1995.
- NEILL, C.; GARCIA-MONTIEL, D.C.; PICCOLO, M.C.; CERRI, C.; STEUDLER, P.A.; MELILLO, J.M. & BRITO, M. Net nitrogen mineralization rates in soils following deforestation for pasture across the southwestern Brazilian Amazon Basin Landscape. *Oecologia*, 110:243-252, 1997.
- NEILL, C.; GARCIA-MONTIEL, D.C.; PICCOLO, M.C.; STEUDLER, P.A.; MELILLO, J.M.; FEIGL, B.J. & CERRI, C. Nitrogen dynamics in soils of forest and active pasture in the western Brazilian Amazon basin. *Soil Biol. Biochem.*, 27:1167-1175, 1995.
- NOBRE, A.D.; KELLER, M.; CRILL, P.M. & HARRIS, R.C. Short-term nitrous oxide profile dynamics and emissions response to water, nitrogen and carbon additions in two tropical soils. *Biol. Fert. Soil*, 34:363-373, 2001.
- PARSONS, W.F.J.; MITRE, M.E.; KELLER, M. & REINERS, W.A. Nitrate limitation of N<sub>2</sub>O production and denitrification from tropical pasture and rainforest soils. *Biogeochem.*, 22:179-193, 1993.
- PAYNE, W.J. Denitrification. New York, Wiley, 1981. 241p.
- PASSIANOTO, C.C.; AHRENS, T.; FEIGL, B.J.; STEUDLER, P.A.; CARMO, J.B. & MELILLO, J.M. Emissions of CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O, and NO in conventional and no-till management practices in Rondônia, Brazil. *Biol. Fert. Soil*, 38:200-208, 2003.
- PICCOLO, M.C.; NEILL, C. & CERRI, C.C. Net nitrogen mineralization and net nitrification along a tropical forest-to-pasture chronosequence. *Plant Soil*, 162:61-70, 1994.
- PINTO, M.; MERINO, P.; DEL PRADO, A.; ESTAVILLO, J.M.; YAMULKY, S.; GEBAUER, G.; PIERTZAK, S.; LAUF, J. & OENEMA, O. Increased emissions of nitric oxide and nitrous oxide following tillage of a perennial pasture. *Nut. Cyc. Agroecosys.*, 70:13-22, 2004.
- POTTER, C.S.; MATSON, P.A.; VITOUSEK, P.M. & DAVIDSON, E.A. Process modelling of controls on nitrogen gas emissions from soils world-wide. *J. Geophys. Res.*, 1001:1361-1377, 1996.
- PRATHER, M.; EHHALT, D.; DENTENER, F.; DERWENT, R.; DLUGOKENCKY, E.; HOLLAND, E.; ISAKSEN, I.; KATIMA, J.; KIRCHOFF, V.; MATSON, P.; MIDGELY, P. & WANG, M. Atmospheric chemistry and greenhouse gases. In: HOUGHTON, J.T.; DING, Y.; GRIGGS, D.J.; NOGUER, M.; van der LINDEN, P.J. & XIAOSU, D., eds. *Climate change 2001: The Scientific Basis*. New York, Cambridge University Press, 2001. p.239-287.
- REINERS, W.A.; BOUWMAN, A.F.; PARSONS, W.F.J. & KELLER, M. Tropical rain forest conversion to pasture: Changes in vegetation and soil properties. *Ecol. Appl.*, 4:363-377, 1994.
- RUZICKA, J. & HANSEN, E.H. Flow injection analysis. New York, Wiley Interscience, 1981. 395p.
- SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT guide for personal computers - Version 6. 12.ed. Cary, 1999 1028p.
- SCHIMEL, J.P.; FIRESTONE, M.K. & KILLHAM, K.S. Identification of heterotrophic nitrification in a Sierran Forest soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48:802-806, 1984.
- STEUDLER, P.A.; GARCIA-MONTIEL, D.C.; PICCOLO, M.C.; NEILL, C.; MELILLO, J.M.; FEIGL, B.J. & CERRI, C.C. Trace gas responses of tropical forest and pasture soils to N and P fertilization. *Global Biogeochem. Cycles*, 16:1029-1033, 2002.
- STEUDLER, P.A.; MELILLO, J.M.; BOWDEN, R.D.; CASTRO, M.S. & LUGO, E.A. The effects of natural and human disturbances on soil nitrogen dynamics and trace gas fluxes in a Puerto Rican wet forest. *Biotropical*, 23:313-521, 1991.
- STOUTHAMER, A.H. Dissimilatory reduction of oxidized nitrogen compounds. In: ALEXANDER, J.B.Z., ed. *Biology of anaerobic organisms*. New York, John Wiley, 1988. p.245-302.
- STOUTHAMER, A.H.; VAN'T RIET, J.A. & OLTSMANN, L.F. Respiration of nitrate as acceptor. In: KNOWLES, C.J., ed. *Diversity in bacterial respiratory systems*. Boca Raton, CRC Press, 1980. v.2, p.19-48.

- TIEDJE, J.M. Denitrification. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H. & KEENEY, D.R., eds. *Methods of soil analysis. Part 2.* Madison: ASA, 1982. p.1011-1026.
- TIEDJE, J.M. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In: ALEXANDER, J.B.Z., ed. *Biology of anaerobic organisms.* New York, John Wiley, 1988. p.179-244.
- VELDKAMP, E.; KELLER, M. & NUÑEZ, M. Effects of pasture management on N<sub>2</sub>O e NO emissions from soils in the humid tropics of Costa Rica. *Global Biogeochem. Cycles*, 12:71-79, 1998.
- VERCHOT, L.V.; DAVIDSON, E.A.; CATTÂNIO, J.H.; ACKERMAN, I.L.; ERICKSON, H.E. & KELLER, M. Land use change and biogeochemical controls of nitrogen emissions from soil in eastern Amazon. *Global Biogeochem. Cycles*, 13:31-46, 1999.
- YOSHINARI, T. & KNOWLES, R. Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction by denitrifying bacteria. *Biophys. Res. Comm.*, 69:705-710, 1976.
- YOSHINARI, T.; HYNES, R. & KNOWLES, R. Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction and measurement of denitrification and nitrogen fixation in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 9:177-183, 1977.