

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**MINERALIZAÇÃO DE NITROGÊNIO DE SOLOS E DE RESÍDUO
ORGÂNICO EM LABORATÓRIO E EM CAMPO**

Fernando Kuhnen
Engenheiro Agrônomo

2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**MINERALIZAÇÃO DE NITROGÊNIO DE SOLOS E DE RESÍDUO
ORGÂNICO EM LABORATÓRIO E EM CAMPO**

Fernando Kuhnen

Orientadora: Profa. Dra. Mara Cristina Pessôa da Cruz

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Ciência do Solo).

2013

K96m Kuhnen, Fernando
Mineralização de nitrogênio de solos e de resíduo orgânico em
laboratório e em campo / Fernando Kuhnen. -- Jaboticabal, 2013
iii, 64 p. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013

Orientadora: Mara Cristina Pessôa da Cruz

Banca examinadora: Manoel Evaristo Ferreira, William Natale,
Estêvão Vicari Mellis, Renato Yagi

Bibliografia

1. Esterco bovino. 2. Fração de mineralização. 3. Métodos de
incubação. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias.

CDU 631.862

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: MINERALIZAÇÃO DE NITROGÊNIO DE SOLOS E DE RESÍDUO ORGÂNICO
EM LABORATÓRIO E EM CAMPO

AUTOR: FERNANDO KUHNEN

ORIENTADORA: Profa. Dra. MARA CRISTINA PESSOA DA CRUZ

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM AGRONOMIA
(CIÊNCIA DO SOLO) , pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. MARA CRISTINA PESSOA DA CRUZ
Departamento de Solos e Adubos / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



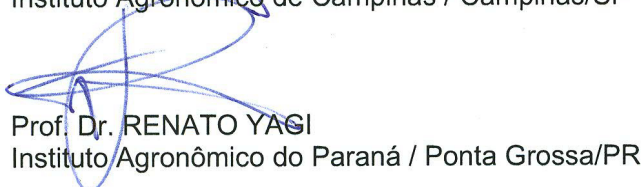
Prof. Dr. MANOEL EVARISTO FERREIRA
Departamento de Solos e Adubos / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



Prof. Dr. WILLIAM NATALE
Departamento de Solos e Adubos / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



Prof. Dr. ESTEVÃO VICARI MELLIS
Instituto Agronômico de Campinas / Campinas/SP



Prof. Dr. RENATO YAGI
Instituto Agronômico do Paraná / Ponta Grossa/PR

Data da realização: 17 de dezembro de 2013.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

FERNANDO KUHNEN – nascido em 19 de julho de 1985, na cidade de Paranaíba – PR, graduou-se em Agronomia pela Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), em fevereiro de 2008. Em março de 2008 iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-graduação em Agronomia (Ciência do Solo), na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP, Campus de Jaboticabal – SP. Durante o mestrado foi bolsista da FAPESP. Em março de 2010 iniciou o curso de Doutorado no Programa de Pós-graduação em Agronomia (Ciência do Solo), na FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal – SP. Durante o doutorado foi bolsista Capes (março à novembro de 2010) e FAPESP (dezembro/2010 a julho/2012 e junho/2013 a janeiro/2014). Foi bolsista do programa de doutorado sanduíche pela FAPESP (BEPE), realizando estágio de pesquisa no exterior no período de agosto/2012 a maio/2013 na University of Illinois at Urbana/Champaign, Illinois - EUA. Durante o doutorado publicou dois artigos como co-autor e participou de quatro reuniões científicas. É revisor do periódico Revista Brasileira de Fruticultura desde 2012.

Aos meus pais, Ancelmo e Valnice Kuhnen, e irmãos, Ivan, Marcos e Marcelo, pelo apoio em todos os momentos, companheirismo e amizade.

À minha esposa Lays Kuhnen, pelo amor e apoio incondicional em todas as horas, contribuindo, também, para a realização deste trabalho.

Dedico

OFEREÇO

À Professora Mara e ao Professor Manoel Evaristo, por contribuírem para meu crescimento pessoal e profissional, participando ativamente nas tomadas de decisões durante o mestrado e o doutorado e, também, pelos aconselhamentos, sempre com muita experiência de vida, na tentativa de me mostrar o melhor caminho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela capacidade de finalizar mais esta etapa em minha vida.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal, pela formação profissional na pós-graduação e oportunidade de concretizar meu objetivo.

À CAPES, pela bolsa de doutorado no período de 03/2010 a 10/2010.

À FAPESP, pela bolsa de doutorado e suporte financeiro para realização deste trabalho (Processo nº 2010/10.420-9) e pela Bolsa de Estágio de Pesquisa no Exterior (Processo nº 2012/09.732-1), sem os quais não teria sido possível a concretização deste trabalho.

À University of Illinois at Urbana/Champaign (EUA) pelo oportunidade na realização do doutorado “sanduíche” e suporte para a realização da pesquisa proposta.

À Profa. Dra. Mara Cristina Pessôa da Cruz, orientadora e amiga, por me auxiliar nas ilimitadas dúvidas surgidas durante o período experimental e sempre me indicar o melhor caminho a seguir, exemplo de trabalho e dedicação à pesquisa e ao ensino.

Ao Prof. Dr. Manoel Evaristo Ferreira, exemplo de dedicação e amor ao trabalho, pelos conselhos e sugestões para a realização deste trabalho, além da amizade construída durante todos esses seis anos.

Aos Professores Dr. Richard L. Mulvaney e Dr. Saeed A. Khan, pela orientação durante o estágio de pesquisa no exterior; pessoas exemplares, dedicando, com amor, sua vida ao ensino e à pesquisa.

À Selma Guimarães Figueiredo, técnica do laboratório de Fertilidade do Solo, pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho, e pelo carinho, e a quem agradeço de coração por ser minha amiga.

Aos amigos Senhor Rubens (em memoriam) e Dona Amélia Pessôa da Cruz, pela disponibilidade da área para o experimento de campo, mas principalmente pela amizade e pelos ensinamentos durante as longas tardes de conversa, fica aqui o meu sincero agradecimento.

Aos amigos Felipe Batistella Filho, Thiago de Barros Sylvestre, Leonardo Mella de Godói, Aluísio Hideki Togoro, Juliana, Lucas e Bruno Boscov Braos, Marina Ali Mere Bergamasco, Aline Trombeta Bettiol, Samira Furtado de Queiroz, Jaqueline Nayara Ferraça Leite, Rita de Cássia Melo Guimarães, Juan Gabriel Cristhoffer Lopes Ruiz, Gilberto, pela amizade e companheirismo durante toda a caminhada, além do apoio na realização deste trabalho.

Aos amigos Rafael, Vivian, Michele, Heloísa, Deco, Scott (EUA), Fernando (México), Guillermo (República Dominicana), João (Portugal), Gary (EUA) e aos professores de inglês nos EUA, pela amizade e por fazerem a vivência nos EUA menos penosa.

Aos amigos Márcio e Michele Megda, pela amizade.

Aos amigos Getúlio de Freitas Seben Júnior e Lígia, pela amizade e boa convivência desde os tempos de graduação, tornando-se meus compadres.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ii
ABSTRACT	iii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Métodos de avaliação da mineralização de N orgânico do solo.....	3
2.2 Fracionamento do N orgânico	9
3 MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Determinação da mineralização do N orgânico de solos em laboratório	13
3.1.1 Solos	13
3.1.2 Ensaios de mineralização	14
3.2 Determinação das frações do N orgânico de solos e do N-ISNT	17
3.2.1 Frações do N orgânico.....	17
a) N-total hidrolisável (N-TH)	18
b) N-NH ₄ ⁺ hidrolisável (N-AH).....	19
c) N-NH ₄ ⁺ + aminoaçúcares (N-AAç).....	19
d) N-aminoácidos (N-AA).....	20
e) N-não identificado (N-NI).....	20
3.3 Determinação do N absorvido por plantas de milho em experimento em casa de vegetação	21
3.4 Determinação da mineralização de N de esterco bovino em laboratório.....	23
3.5 Determinação da mineralização do esterco bovino em campo	24
3.5.1 Preparo da resina trocadora de íons.....	24
3.5.2 Instalação e condução do experimento no campo	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1 Determinação da mineralização do N orgânico de solos em laboratório	32
4.2 Frações do N orgânico e N-ISNT.....	42
4.3 Determinação da taxa de mineralização de N de esterco bovino em campo e em laboratório.....	47
5 CONCLUSÕES	56
6 LITERATURA CITADA	57

Mineralização de nitrogênio de solos e de resíduo orgânico em laboratório e em campo

RESUMO - O conhecimento da taxa de mineralização do N orgânico é uma medida útil para orientar o manejo da adubação nitrogenada e a aplicação de resíduos orgânicos no solo, de modo a minimizar os riscos de aplicações insuficientes ou excessivas e os riscos de perdas de produção e de poluição ambiental. Os objetivos com este trabalho foram: avaliar métodos de incubação e de fracionamento do N orgânico de solos como índices de disponibilidade de N para plantas; determinar a taxa de mineralização do N do esterco bovino em laboratório e no campo. Foram conduzidos quatro experimentos em laboratório, um em casa de vegetação e um em campo. Nos experimentos em laboratório foram determinadas as taxas de mineralização a 28°C, 18°C por 10 horas e 23°C por 14 horas (18/23°C por 10/14h), e 23°C por 10 horas e 28°C por 14 horas (23/28°C por 10/14h), de 17 amostras de solos do planalto ocidental do Estado de São Paulo, coletadas na camada de 0 a 20 cm. Os experimentos em laboratório foram instalados em sistema de colunas, com lixiviação em intervalos variáveis e duração de 112 dias. Nas mesmas amostras foi aplicado o método Illinois Soil Nitrogen Test (N-ISNT) e foram determinadas as frações do N orgânico. No experimento em casa de vegetação com os mesmos 17 solos foi obtido o N absorvido (Nabs) por plantas de milho, que foi usado como referencial de disponibilidade de N para os métodos de laboratório (incubação e fracionamento). A determinação da taxa de mineralização do esterco bovino foi determinada no laboratório, a 23/28°C por 10/14h e, no campo, foi instalado experimento com milho e doses de esterco bovino (0, 10, 20, 30 e 40 t ha⁻¹) para determinar a fração de mineralização do N orgânico usando o método da resina trocadora de íons nos tratamentos 0 e 20 t ha⁻¹ de esterco. A temperatura de incubação não afetou a correlação entre as quantidades de N mineralizado acumulado (Nmac) e o Nabs. O Nmac obtido por incubação das amostras de solo a 18/23°C, em laboratório, foi o que mais se aproximou, em valores absolutos, do Nabs por plantas de milho em casa de vegetação e, por isso, pode ser considerado o melhor índice de disponibilidade de N. A fração N-aminoácidos e o índice N-ISNT foram os que melhor correlacionaram com o Nabs e o Nmac e o N-ISNT pode ser adaptado para uso em rotina. A determinação da taxa de mineralização de N em ensaio de incubação em laboratório é mais indicada do que o método em campo, com resina trocadora de ânions, em solo com ou sem aplicação de esterco bovino. A fração de mineralização do esterco bovino obtida em incubação em campo foi 4,2% e em laboratório foi 18,9%, em 112 dias.

Palavras-chave: esterco bovino, fração de mineralização, métodos de incubação, N orgânico, resina trocadora de íons

Nitrogen mineralization of soils and organic fertilizer evaluated by laboratory and field methods

ABSTRACT – The knowledge of organic N mineralization rate is a useful tool to guide management of nitrogen fertilization and application of organic residues in the soil, so as to minimize the risk of excessive or insufficient applications and the risk of production losses and environmental pollution. The objectives of this study were to evaluate incubation methods and soil organic N fractionation as indices of N availability to plants; and to determine the N mineralization rate of cattle manure in the laboratory and in the field. Four experiments were carried out in the laboratory, one in the greenhouse and in the field. In laboratory experiments were determined mineralization rates at 28°C, 18°C for 10 hours and 23°C for 14 hours (18/23°C by 10/14h), 23°C for 10 hours and 28°C for 14 hours (23/28°C by 10/14h) of 17 soil samples from the western highlands of São Paulo State, collected in the 0 to 20 cm layer. The laboratory experiments were installed in the column system, with leaching at variable intervals during 112 days. In the same samples we applied the Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT-N) method and determined the organic N fractions. In greenhouse experiment with the same 17 soils was obtained the N uptake by corn plants (N uptake), which was used as a reference for N availability to laboratory methods (incubation and fractionation). The N mineralization rate of cattle manure (0 and 20 t ha⁻¹) was determined in the laboratory at 23/28°C for 10/14h; and in the field, using the method of anion exchange resin. The incubation temperature did not affect the correlation between the accumulated N mineralized (N_{am}) and N uptake by corn plants. The N_{am} obtained by incubation of the soil samples to 18/23°C came closest in absolute values of N uptake and therefore can be considered the best index of available N. The aminoacid-N fraction and the ISNT-N were the best correlated with N uptake and N_{am} and the latter can be adapted for use in routine. The determination of the N mineralization rate in laboratory incubation test is more appropriate than the method in the field with an anion exchange resin in soil with or without manure application. The mineralization of cattle manure obtained from incubation in the field was 4.2% and in the laboratory was 18.9% in 112 days.

Keywords: cattle manure, incubation methods, ion exchange resin, mineralization rate, organic N

1 INTRODUÇÃO

A matéria orgânica (MO) é o principal reservatório de N do solo e, da sua transformação em N mineral, resultam as formas disponíveis para as plantas. Estas transformações são difíceis de prever e medir. Métodos químicos e biológicos vêm sendo testados há décadas na sua capacidade de avaliar o potencial do solo em fornecer N para as plantas, mas ainda não são empregados em análise de rotina, exceção feita à determinação da MO, usada em alguns estados do Brasil como índice de disponibilidade, na recomendação de adubação nitrogenada.

Ter a estimativa do N inorgânico oriundo do processo de mineralização da MO do solo é importante para melhorar a eficiência da adubação nitrogenada, uma vez que cerca de 50% do N-fertilizante aplicado é absorvido pelas plantas, sendo o restante fornecido pelo solo. Deste modo, a utilização de métodos que possibilitem a previsão da quantidade de N orgânico que será mineralizado é muito importante.

O método biológico mais empregado para estimar o N mineralizado é o de incubação de amostras de solo em laboratório, com lixiviação. Com os resultados de N mineralizado acumulado após o período de incubação é calculado o N potencialmente mineralizável (N_0), o qual corresponde à fração do N orgânico mineralizado, estimado por meio de modelo exponencial de cinética de primeira ordem. As principais críticas a este método estão relacionadas às condições constantes de temperatura e umidade que são usadas, e que resultam em valores de N_0 superestimados.

Alternativas para os métodos de laboratório usados na determinação da mineralização de N existem. Com elas o que se pretende é avaliar a mineralização de N levando em consideração o maior número possível de variáveis que interferem no processo (temperatura, umidade e aeração), em condições de campo. Dentre os métodos de campo utilizados para determinar a mineralização do N orgânico do solo e de resíduos orgânicos, o que utiliza amostra indeformada de solo dentro de tubo de PVC, com resina trocadora de íons no fundo do tubo, é o que, do ponto de vista teórico, melhor atende ao objetivo. Com ele, o N mineralizado é medido no solo e na resina, cuja função é reter o $N-NO_3^-$ mineralizado no solo e arrastado pela água das

chuvas até o fundo do tubo. Como desvantagens, o método é muito trabalhoso, e há risco de saturação da resina no fundo do tubo e perda de N mineralizado.

Além dos métodos biológicos, métodos químicos podem ser usados para estimar o N mineralizável. O fracionamento das formas orgânicas de N é o mais sofisticado e pode ser o precursor de métodos mais simples, de uso rotineiro. Foi a partir do fracionamento do N orgânico que foi proposto o Illinois Soil Nitrogen Test, que apenas recentemente começou a ser aplicado no Brasil, com resultados promissores (OTTO et al., 2013).

Da comparação entre as técnicas de medida do N mineralizado em laboratório e no campo é possível aprimorar os procedimentos de recomendação de doses de fertilizantes nitrogenados e de resíduos orgânicos, e conciliar interesses agrônômicos e ambientais. Os objetivos com este trabalho foram: avaliar métodos de incubação e de fracionamento do N orgânico de solos como índices de disponibilidade de N para plantas; determinar a taxa de mineralização do N do esterco bovino em laboratório e no campo.

Parte-se das hipóteses que:

- A incubação em condições de temperatura que simulem as variações que ocorrem no campo melhora a estimativa do N mineralizado em laboratório e aproxima os valores das condições naturais.
- As frações do N orgânico do solo que contêm compostos mais simples, de degradação mais rápida, representam melhor o N-disponível.
- Métodos de campo são mais adequados para avaliar a mineralização de N do que métodos de laboratório.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Métodos de avaliação da mineralização de N orgânico do solo

A estimativa do N orgânico do solo que pode ser transformado em N mineral em determinado período de tempo é uma medida útil da capacidade de fornecimento de N para plantas. Ela pode ser usada tanto para estimar a capacidade de fornecimento de N do próprio solo quanto para avaliar o potencial de liberação de N-mineral de adubos orgânicos. No Estado de São Paulo, a recomendação de doses de lodos resultantes de sistemas de tratamento biológico de despejos líquidos sanitários se baseia no uso de métodos de incubação em laboratório, com ou sem lixiviação. A partir da taxa de mineralização de N obtida em laboratório e da dose de N recomendada para culturas em geral é possível calcular a dose de lodo a ser aplicada (CETESB, 1999). O método de incubação com lixiviação está baseado na proposta original de Stanford e Smith (1972), com modificações, particularmente na temperatura de incubação, que foi alterada de 35°C para 25 a 28°C, e o mesmo princípio que é adotado para lodos pode ser aplicado para outros resíduos sólidos.

O método de Stanford e Smith (1972) foi proposto para estimar o N potencialmente mineralizável (N_0), com base na mineralização do N orgânico por 30 semanas de incubação aeróbica de mistura de solo + areia, com umidade adequada e a 35°C. Embora este procedimento seja considerado como método de referência, é utilizado apenas em pesquisas, pois é demorado e inaplicável em análise de rotina.

Um outro método, de duração menor, já existia quando Stanford e Smith (1972) propuseram a incubação aeróbia. O procedimento foi proposto por Keeney e Bremner (1966), e nele a incubação é feita em condições anaeróbias, a 40°C por 7 dias. Deste modo, quando comparado com o método de incubação aeróbia (30 semanas), é mais simples e rápido, inclusive pelo fato de não haver necessidade de controle de umidade. Embora tenha sido testado em diferentes situações, e os resultados não sejam ruins, os ensaios conduzidos em condições aeróbias têm sido preferidos (WIENHOLD, 2007).

Uma das vantagens do emprego de ensaios de mineralização com períodos de incubação mais longos do que o recomendado no método de incubação anaeróbia é a possibilidade de estimar N_0 . Ele é estimado pela medida do N

mineralizado em função do tempo, por lixiviação periódica do N mineral do solo. O N_0 é calculado usando modelo exponencial de cinética de primeira ordem: $N_{min} = N_0 \cdot (1 - e^{-kt})$, em que: N_{min} é o N mineralizado acumulado no tempo t , N_0 é o N potencialmente mineralizável, e k é a constante de mineralização (STANFORD; SMITH, 1972).

Utilizando o modelo de cinética de primeira ordem, pressupõe-se que o N orgânico do solo está em um único reservatório. No período inicial de incubação do solo há aumento do N mineralizado acumulado, atribuído às frações orgânicas de menor peso molecular e de fácil mineralização (AGEHARA; WARNCKE, 2005; RHODEN et al., 2006; YAGI et al., 2009). Este aumento inicial é proveniente da reciclagem da biomassa microbiana, estimulada pela aeração e manuseio das amostras de solo (STANFORD; SMITH, 1972; CAMARGO; GIANELLO; VIDOR, 1997a; MOBERG; JOHNSON; SULLIVAN, 2013). Em seguida, ocorre diminuição e estabilização da quantidade mineralizada, atribuídas às frações de maior peso molecular e de maior recalcitrância (PARKER; SOMMERS, 1983; YAGI et al., 2009). Propostas para a utilização de modelos duplos ou múltiplos para explicar a mineralização do N orgânico existem (MOLINA; CLAPP; LARSON, 1980; BENDI; RICHTER, 2002; CAMARGO et al., 2002). Com eles pressupõem-se que possam existir dois ou mais reservatórios de N orgânico no solo, e que cada um possui taxa de mineralização específica, mas o modelo simples é mais comumente utilizado.

O modelo exponencial de cinética de primeira ordem tem sido utilizado para descrever a cinética de mineralização em diferentes condições de manejo, culturas e condições climáticas (GONÇALVES; MENDES; SASAKI, 2001; YAGI et al., 2009; MARIANO et al., 2013). Gonçalves, Mendes e Sasaki (2001) obtiveram em 16 amostras de solos do Estado de São Paulo, coletadas em ecossistemas naturais e implantados, variação no N_0 de 15 a 122 mg kg⁻¹ de N. Mariano et al. (2013) determinaram valores de N_0 entre 40 e 90 mg kg⁻¹ de N, em 5 amostras de solos, também do Estado de São Paulo, coletadas em áreas de cultivo de cana-de-açúcar. Isto demonstra que solos diferem não somente na quantidade de N orgânico, mas também na atividade da comunidade microbiana (BENDI; RICHTER, 2002).

Em trabalhos de mineralização de N é comum a extrapolação dos resultados obtidos em laboratório para valores que seriam obtidos em campo, em kg ha⁻¹ de N,

em determinado período de incubação. Yagi et al. (2009) obtiveram valores de N_0 extrapolados para camada de 0 a 20 cm de um hectare de 240 a 959 kg ha⁻¹ de N, com média de 479 kg ha⁻¹, em 30 semanas de incubação, e Mariano et al. (2013), em 32 semanas de incubação, determinaram valores médios de N_0 extrapolados para camada de 0-60 cm de 336 kg ha⁻¹ de N. Ambos os autores sugerem que os resultados são demasiadamente altos para condições naturais.

Uma das críticas aos métodos de incubação em laboratório para a determinação da taxa de mineralização de N está associada à manutenção da temperatura e da umidade constantes e próximas do ótimo durante todo o período de avaliação, o que não ocorre em condições de campo. Ainda, quando é feita percolação de solução salina através da amostra ocorre perda de N orgânico solúvel, que participa dos processos de ciclagem do nutriente no solo, mas que não é contabilizado na quantidade mineralizada (CAMARGO; GIANELLO; VIDOR, 1997b; YAGI et al., 2009; MARIANO et al., 2013). Adams e Attiwill (1986) compararam a mineralização da matéria orgânica do solo pelos métodos de laboratório e de campo e verificaram que as taxas de mineralização em campo foram inferiores às do laboratório. Os autores relataram que a temperatura elevada e constante do método de laboratório foi o principal responsável por essa diferença. Deste modo, a extrapolação dos resultados de mineralização do N em laboratório para campo pode não ser desejável, pois os processos podem ser afetados por um grande número de fatores que não podem ser controlados (SIMS, 1990; SIERRA, 1997; WIENHOLD, 2007). Dentre os fatores que interferem na mineralização do N orgânico, a temperatura está entre os mais importantes. As condições ótimas de ocorrência das transformações de N orgânico a $N-NH_4^+$ são associadas com temperaturas entre 25 e 35°C (HAVLIN et al., 2005). Na fase final das transformações, quando ocorre a conversão de $N-NH_4^+$ a $N-NO_3^-$ (nitrificação), o intervalo de temperaturas mais favorável está entre 25 e 35°C, com ótimo em 25°C (SAHRAWAT, 2008).

Uma proposta para ajustar a temperatura de incubação e minimizar as diferenças entre as condições de laboratório e de campo foi feita por Agehara e Warncke (2005). Os autores submeteram amostras de solo a três regimes de temperaturas durante o período de incubação: 1) 15°C por 10 horas, seguido de

10°C por 14 horas (15/10°C por 10/14 horas); 2) 20°C por 10 horas, seguido de 15°C por 14 horas (20/15°C por 10/14 horas); e, 3) 25°C por 10 horas, seguido de 20°C por 14 horas (25/20°C por 14/10 horas). Os autores observaram aumento na produção das formas minerais de N com o aumento da temperatura de incubação. No entanto, o trabalho não foi conclusivo, uma vez que, para validação dos métodos de laboratório, são necessárias pesquisas em casa de vegetação e no campo para verificar as correlações das quantidades de N mineralizadas com o N absorvido por plantas. Havendo correlação entre o N mineralizado estimado em laboratório em amostras submetidas à variação de temperatura e a mineralização determinada em condições de campo, a viabilidade de execução do procedimento em laboratório é maior.

Em princípio, a melhor forma de medir a taxa de mineralização do N do solo é no próprio campo, de modo que todos os fatores, principalmente temperatura, umidade, aeração e pH, são levados em consideração simultaneamente. Existem vários métodos de avaliação da mineralização de N *in situ*. Em todos os casos é admitido que as condições microambientais dentro dos contêineres são similares às aquelas existentes no solo circundante. Entre os métodos podem ser citados o dos sacos enterrados (ENO, 1960), o dos tubos cobertos (ADAMS; ATTIWILL, 1986) e o da resina trocadora de íons (DISTEFANO; GOHLS, 1986).

O método dos sacos enterrados (ENO, 1960) consiste em manter determinada quantidade de solo em sacos de polietileno enterrados a certa profundidade, por alguns dias ou semanas, para incubação. A vantagem deste método é que a umidade do solo é ajustada antes da implantação do sistema, no início do período de incubação. É um método de fácil condução e sensível às flutuações de temperatura, mas danos físicos nos sacos, causados por insetos ou raízes de plantas, podem contribuir para a perda do N mineralizado do solo por difusão ou fluxo de massa (ENO, 1960). Além disso, embora o polietileno permita troca de gases, os processos que envolvem o uso de oxigênio dentro dos sacos, como por exemplo a nitrificação, podem ser afetados pela diminuição do oxigênio decorrente da própria atividade microbiana (ABRIL; CAUCAS; BUCHER, 2001).

Em solos agrícolas, Subler, Parmelee e Allen (1995) estudaram a utilização dos sacos enterrados para avaliar a taxa de mineralização do N. Os autores

constatarem que a umidade e a temperatura do solo dentro dos sacos enterrados oscilaram em resposta à mudança no solo circundante, o que contraria o pressuposto que a umidade do solo dentro do saco enterrado mantém-se constante durante o período de avaliação. Os autores argumentaram que os sacos enterrados podem não ter sido selados completamente, ou eles podem ter sido perfurados durante a colocação no solo ou, ainda, podem ter ocorrido falhas no sistema de fechamento tipo zip-lock.

Analisando o solo dentro e fora dos sacos enterrados, no início e no final de duas semanas de incubação, Abril, Caucás e Bucher (2001) verificaram que houve decréscimo no número de microrganismos nitrificadores e na taxa de respiração dos microrganismos no solo dentro dos sacos enterrados. Com este resultado, os autores concluíram que o método de incubação *in situ* utilizando os sacos enterrados subestima a taxa de mineralização do N orgânico do solo.

O método dos tubos cobertos (ADAMS; ATTIWILL, 1986) é considerado uma alternativa mais durável para o método dos sacos enterrados (HANSELMAN; GRAETZ; OBREZA, 2004). Neste método, tubos de PVC ou metal com perfurações nas paredes laterais para permitir aeração do solo são inseridos no solo e tampados na parte superior para evitar a entrada da água das chuvas (DOU; ALVA; KHAKURAL, 1997). Como no método dos sacos enterrados, também há a possibilidade de perda de N mineralizado por meio dos furos nas paredes dos tubos ou no fundo do tubo, por difusão ou fluxo de massa (SUBLER; PARMELEE; ALLEN, 1995). Outro problema deste método é o risco de perda de N mineralizado por absorção pelas raízes, subestimando, deste modo, o valor final de N mineralizado.

Em solo com histórico de adubação com esterco, Ma, Dwyer e Gregorich (1999) avaliaram a mineralização do N utilizando o método dos tubos cobertos. A cada três semanas, durante 6 meses, foram retirados três tubos cobertos do campo e inseridos outros três tubos cobertos, para dar continuidade a incubação. Os autores verificaram que os tubos cobertos foram eficientes para determinação da mineralização de N e que não houve diferença entre a umidade dentro do tubo e no solo adjacente. Por outro lado, Hanselman, Graetz e Obreza (2004) consideraram que o método foi ineficiente para manutenção da umidade adequada dentro do tubo,

apesar de terem verificado que a oscilação da temperatura dentro do tubo foi próxima da registrada no solo adjacente.

O método da resina trocadora de íons é a técnica *in situ* mais adequada para manter o N mineralizado no sistema (HANSELMAN; GRAETZ; OBREZA, 2004). No método da resina (DISTEFANO; GHOLZ, 1986), a incubação de amostra intacta de solo é feita em tubo de PVC ou metal com resina trocadora de ânions na base, em sacos, as quais adsorvem o N-inorgânico mineralizado e lixiviado da amostra. A principal vantagem deste método, frente a outros de incubação em campo, é que a temperatura, a umidade e a aeração do solo contido no tubo sofrem flutuações semelhantes às do solo que está externamente a ele (HANSELMAN; GRAETZ; OBREZA, 2004; WIENHOLD; VARVEL; WILHELM, 2009). Uma desvantagem é que pode ocorrer a saturação da resina por íons e, conseqüentemente, haver perda de N mineralizado por lixiviação, o que reduz a eficiência do método (KJONAAS, 1999), mas isso ocorre somente se os tubos com a resina forem mantidos no campo por mais de 180 dias (HANSELMAN; GRAETZ; OBREZA, 2004). Segundo Eghball (2000), 35 cm³ de mistura de resina aniônica e catiônica foram capazes de adsorver quantidade equivalente a 275 kg ha⁻¹ de N inorgânico, em estudo conduzido em solo que recebeu adubação mineral, após 350 mm de precipitação pluvial.

O método da resina trocadora de íons forneceu estimativa razoável da mineralização de N, em experimento de comparação com métodos de laboratório, em condição aeróbia e anaeróbia (WEINHOLD, 2007). O autor obteve 101 kg ha⁻¹ de N, 284 kg ha⁻¹ de N e 134 kg ha⁻¹ de N mineralizados empregando os métodos de laboratório em condição anaeróbia e aeróbia, e de campo, respectivamente, condição em que plantas de milho absorveram 215 kg ha⁻¹ de N.

O método da resina trocadora de íons foi eficiente para determinar a taxa de mineralização do N orgânico aplicado como esterco bovino e composto orgânico, em três anos de avaliação (EGHBALL, 2000). No experimento houve aumento da quantidade de N-NO₃⁻ na resina com o tempo de incubação, o que foi relacionado com o período de diminuição da forma de N-NH₄⁺ e aumento da forma de N-NO₃⁻ no solo.

Para padronizar os resultados das pesquisas envolvendo a mineralização do N em campo em áreas de adição de adubos orgânicos o Departamento de

Agricultura dos EUA (USDA) publicou um protocolo (HONEYCUTT et al., 2005), no qual o emprego do método da resina trocadora de íons é recomendado como referencial para pesquisas, utilizando apenas resina trocadora de ânions no fundo de tubos de PVC para a quantificação do N-NO_3^- .

2.2 Fracionamento do N orgânico

Cerca de 98% do N total (N_t) do solo está na forma orgânica (CAMARGO; GIANELLO; VIDOR, 1997a), a qual, após transformações, resulta nas formas minerais disponíveis para as plantas (N-NH_4^+ e N-NO_3^-). Nos últimos anos, pesquisas com ^{15}N têm comprovado que a maior parte do N assimilado pelas plantas provém de N inorgânico do solo (N-NH_4^+ e N-NO_3^-) originado dos processos de mineralização do N orgânico e nitrificação (LARA CABEZAS et al., 2000; GAVA et al., 2006; DOURADO-NETO et al., 2010). Com isto pode-se conseguir aumento de eficiência no manejo da adubação com N-fertilizante.

Do N orgânico presente nas substâncias húmicas do solo participam muitos compostos, sendo, aproximadamente, 40% material proteico (proteínas, peptídeos e aminoácidos); 5 a 6% aminoaçúcares; 35% compostos nitrogenados heterocíclicos (incluindo purinas e pirimidinas); 19% NH_3 , com $\frac{1}{4}$ fixada na forma de NH_4^+ . Assim, materiais proteicos e compostos heterocíclicos predominam no N_t do solo e, do fracionamento do N orgânico podem resultar indicações sobre a suscetibilidade de mineralização dos compostos (SHULTEN; SCHNITZER, 1998).

Para estimar as frações do N orgânico do solo são utilizados métodos químicos (MULVANEY, 1996), nos quais os extratores são soluções ácidas e alcalinas (STEVENSON, 1996; KHAN; MULVANEY; HOEFT, 2001; MULVANEY et al., 2001), que extraem apenas parte do N orgânico da MO do solo.

As formas orgânicas do N em solos são determinadas mediante a quantificação dos compostos orgânicos liberados por meio da hidrólise ácida e, segundo Stevenson (1982), o N do hidrolisado é separado nas seguintes frações: N-total hidrolisável, NH_4^+ hidrolisável, N-aminoácidos, N-aminoaçúcares, e, por cálculo, obtém-se o N-insolúvel em ácido e o N-não identificado. Para a quantificação do N em cada fração podem ser utilizados o método da destilação a vapor (BREMNER, 1965; STEVENSON, 1996) e o método da difusão, o último de maior precisão e

exatidão que o primeiro (MULVANEY; KHAN, 2001; MULVANEY et al., 2001). O método da difusão foi desenvolvido como alternativa simples e eficiente para substituir a destilação a vapor (MULVANEY; KHAN, 2001). Na difusão usam-se câmaras do tipo Mason jar - frascos de vidro hermético utilizados originalmente para guardar alimentos, com adaptação na tampa para manter suspensa uma placa de petri contendo solução ácida capaz de adsorver a $N-NH_3$ liberada durante a difusão da amostra.

Não há consenso em relação à fração que melhor se correlaciona com a absorção de N pelas plantas. Na literatura, alguns trabalhos definem a fração N-aminoaçúcares como sendo a que melhor representa o N disponível do solo (BREMNER, 1965; STEVENSON, 1982; GIANELLO; BREMNER, 1986; MULVANEY et al., 2001; KHAN; MULVANEY; HOEFT, 2001; SPARGO et al., 2009). Esta fração vem sendo utilizada para classificar áreas quanto à probabilidade ou não de resposta à adubação nitrogenada. Mulvaney et al. (2001) analisaram 18 amostras de solo do Estado de Illinois (EUA) e determinaram nos hidrolisados, teores de N-aminoácidos variando de 70 a 908 $mg\ kg^{-1}$, $N-NH_4^+$ hidrolisável de 182 a 604 $mg\ kg^{-1}$, e N-aminoaçúcares de 46 a 511 $mg\ kg^{-1}$. Nos solos que não responderam à adubação nitrogenada foram determinados teores altos de N-aminoaçúcares, e esta fração apresentou maior correlação (0,79**) com a produção do tratamento sem adição de fertilizante nitrogenado. Os autores afirmam que a maior produção de N mineral, em 12 semanas de incubação, foi obtida nos solos que não responderam à adubação nitrogenada, e que a mineralização foi seguida de decréscimo na concentração de N-aminoaçúcares, separando, deste modo, com base na concentração de N-aminoaçúcares, solos que respondem ($< 200\ mg\ kg^{-1}$) e não respondem ($> 250\ mg\ kg^{-1}$) à adubação nitrogenada. Por outro lado, Klapwyk e Ketterings (2006) relataram que a concentração de N-aminoaçúcares não foi capaz de separar áreas responsivas e não-responsivas à adubação nitrogenada em amostras de solos do Estado de New York (EUA), e Barker, Sawyer e Al-Kaisi (2006) afirmaram que não houve correlação significativa entre N-aminoaçúcares, produção relativa de grãos e taxa ótima de utilização de N em solos de Iowa (EUA).

Reddy et al. (2003) obtiveram correlação significativa entre o N mineralizado e todas as frações do N no hidrolisado de solo (N-total hidrolisado, N-aminoácidos, N-

hexosamina, N-NH_4^+ hidrolisado e N-não indentificado). Todas as correlações foram maiores que 0,87**, mas com valores maiores para a fração N-aminoácidos, 0,96** considerando o N mineralizado em ensaios de incubação aeróbia por duas semanas e 0,99** em ensaio de incubação anaeróbia por 7 dias, ambos a 30°C. Proporções consideráveis, dentro do N-total hidrolisável, foram obtidas nas frações N-aminoácidos (22 a 26%) e N-NH_4^+ hidrolisável (19 a 24%), e houve correlação entre as frações do N-total hidrolisável do solo e a quantidade de N absorvida pelas plantas de trigo e milho. Lu et al. (2009) observaram que a fração do N orgânico de 10 amostras de solo que melhor correlacionou com o N potencialmente mineralizável, obtido por incubação aeróbia e anaeróbia, foi o N-NH_4^+ hidrolisável.

Embora o método de fracionamento do N tenha sido proposto na década de 1960 (KEENEY; BREMNER, 1964; BREMNER, 1965), ele poucas vezes foi aplicado em amostras de solos tropicais (CAMARGO; GIANELLO; VIDOR, 1997a; ALFAIA, 2006; OTTO et al., 2013). Comparado aos métodos químicos em que são usadas extrações únicas, o fracionamento é demorado e difícil de executar, mas tem como vantagens as possibilidades de definir quais reservatórios de N do solo mais contribuem com o N disponível, detectar alterações na distribuição do N entre os reservatórios causadas por mudanças de manejo e, assim, concluir sobre os efeitos do manejo na disponibilidade de N e ajustar as doses recomendadas. Ainda, a partir de esquemas de fracionamento complexos, e após definir qual reservatório do nutriente melhor representa o N disponível, é possível propor métodos de extração mais simples e rápidos, que possam ser colocados à disposição nas análises de solo.

2.3 Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT)

Com a proposta de simplificar a obtenção da fração N-aminoaçúcares do solo, Khan, Mulvaney e Hoelt (2001) desenvolveram o Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT), um método simples e rápido utilizado para estimar o N-NH_4^+ liberado por hidrólise utilizando solução de NaOH 2 mol L^{-1} . O ISNT, como é conhecido, estima a fração N-aminoaçúcar + N-NH_4^+ trocável do solo, um reservatório lábil de N que pode ser considerado uma aproximação do N que ficará disponível durante o ciclo da cultura.

No método, a quantificação do N é feita por difusão, nos recipientes tipo Mason jar, com as mesmas adaptações usadas na determinação das frações de N (item 2.2).

O ISNT é um exemplo de, como a partir de fracionamentos complexos, poder ser obtidos procedimentos mais simples e adequados ao uso rotineiro. Os resultados obtidos até o momento com o ISNT não são conclusivos e as diferenças nos resultados foram atribuídas ao clima; ao uso ou não de rotação de culturas; ao uso de resíduos orgânicos como esterco, por exemplo; ao preparo do solo; à densidade de semeadura; e à características do solo; incluindo relação C/N (LUCE et al., 2011). Ruffo et al. (2006) verificaram que o N-ISNT foi adequado para uso em agricultura de precisão, predizendo adequadamente a variabilidade espacial da produtividade do milho. Williams et al. (2007a, b) obtiveram regressão linear entre o N-ISNT e o aumento de produção com a dose ótima de N e com a dose ótima econômica (DOEN); e Klapwyk e Ketterings (2006) e Lawrence et al. (2009) relataram que o ISNT previu adequadamente áreas responsivas ao N somente quando interpretado juntamente com o teor de MO do solo. Há também várias situações em que os resultados foram desfavoráveis ao uso do ISNT para separar áreas responsivas ou não à aplicação de N-fertilizante (BARKER; SAWYER; AL-KAISI, 2006; MARRIOTT; WANDER, 2006; LABOSKI et al., 2008; OSTERHAUS; BUNDY; ANDRASKI, 2008).

No Brasil, Otto et al. (2013) avaliaram a eficiência do uso do ISNT em experimento com cana-de-açúcar. Os autores classificaram 6 áreas experimentais com base no N-ISNT e na resposta de produção de cana-de-açúcar à adubação nitrogenada em: áreas altamente responsivas à aplicação de fertilizante nitrogenado, solo com até 57 mg kg⁻¹ de N-ISNT; moderadamente responsivas, N-ISNT entre 77 e 85 mg kg⁻¹ de N; e não-responsivas, N-ISNT entre 175 e 209 mg kg⁻¹.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Determinação da mineralização do N orgânico de solos em laboratório

3.1.1 Solos

Amostras de 17 solos foram coletadas na camada de 0 a 20 cm, no planalto ocidental do Estado de São Paulo. As áreas de coleta foram selecionadas para resultar em ampla variação nos teores de MO e de argila. Os solos coletados foram secos, passados em peneira de 2 mm de abertura de malha, homogêneos e amostrados para caracterização química (RAIJ et al., 2001) e para análise granulométrica (CAMARGO et al., 2009). Na Tabela 1 estão apresentados os solos, classificados conforme Embrapa (2006), a cobertura vegetal e as localidades em que foram coletados. Na Tabela 2 estão os atributos químicos e a granulometria dos solos. Em todas as tabelas, os solos estão ordenados por ordem decrescente de teor de MO.

Tabela 1. Solos utilizados nos experimentos de incubação.

Solo	Classificação ^I	Vegetação	Local da coleta ^{II}
1	LV1	Florestais nativas	Fazenda Lago Azul, Morro Agudo-SP
2	LV2	Pastagem	Fazenda Lago Azul, Morro Agudo-SP
3	LV3	Pastagem	Fazenda N.S. Aparecida, Jaboticabal-SP
4	LV4	Pinheiro	FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP
5	PVA1	Florestais nativas	ITES, Taquaritinga-SP
6	LV5	Cana-de-açúcar orgânica	Fazenda N.S. Aparecida, Jaboticabal-SP
7	PVA2	Milho	IAC, Pindorama-SP
8	LV6	Eucalipto	FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP
9	LV7	Cana-de-açúcar	Fazenda Boa Esperança, Barrinha-SP
10	PVA3	Florestais nativas	IAC, Pindorama-SP
11	PVA4	Pastagem	Rodovia 323, km 7, Monte Alto-SP
12	PVA5	Goiabeira	IAC, Pindorama-SP
13	LV8	Pinheiro	FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP
14	LV9	Cana-de-açúcar	FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP
15	PVA6	Eucalipto	Rodovia SP 323, km 13, Monte Alto-SP
16	PVA7	Seringueira	IAC, Pindorama-SP
17	PVA8	Pomar	Chácara Santa Luzia, Taquaritinga-SP

^I LV = Latossolo Vermelho; PVA = Argissolo Vermelho-Amarelo; ^{II} FCAV/UNESP: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Universidade Estadual Paulista; ITES: Instituto Taquaritinguense de Ensino Superior; IAC: Instituto Agrônomo de Campinas.

Tabela 2. Atributos químicos e granulometria dos solos utilizados nos experimentos de incubação.

Solo ¹	P	S-SO ₄ ⁻	N	MO	pH (CaCl ₂)	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	H+Al	Al ³⁺	CTC	V
	resina		total									
	mg dm ⁻³	mg dm ⁻³	g kg ⁻¹	g dm ⁻³								
LV1	14	7	2,7	75	5,5	3,2	73	32	38	0	146	74
LV2	11	4	2,0	63	5,6	3,3	44	20	31	0	98	68
LV3	21	5	2,2	50	5,2	5,0	42	15	47	1	109	57
LV4	11	5	0,8	40	4,4	1,6	16	4	52	4	74	29
PVA1	10	0	1,1	36	5,1	2,5	39	9	28	0	79	64
LV5	68	4	2,0	35	5,3	4,1	33	11	31	0	79	61
PVA2	123	6	2,1	33	5,7	3,4	41	15	20	0	79	75
LV6	8	5	1,7	33	4,9	1,9	21	7	34	0	64	47
LV7	17	6	1,9	32	5,1	4,9	24	12	34	0	75	55
PVA3	6	5	1,9	30	4,3	2,9	15	10	52	5	80	35
PVA4	5	0	1,4	27	4,8	2,3	18	9	31	2	60	49
PV5A	13	4	1,2	23	4,8	3,4	16	7	31	0	57	46
LV8	15	4	1,2	23	4,9	2,6	18	10	31	1	62	50
LV9	73	5	1,3	22	4,8	2,1	18	4	38	2	62	39
PV6A	5	0	1,1	21	5,1	2,8	20	6	22	0	51	57
PVA7	14	3	0,9	13	5,2	1,3	17	3	18	0	39	54
PV8A	24	0	0,6	9	5,1	1,7	9	4	16	1	31	48

Solo	B	Cu	Fe	Mn	Zn	Areia	Silte	Argila
	mg dm ⁻³					g kg ⁻¹		
LV1	0,43	9,6	39	185,2	1,9	390	140	470
LV2	0,34	7,9	21	78,9	0,9	280	160	560
LV3	0,37	6,6	27	97,8	1,9	170	130	700
LV4	0,34	1,3	57	59,1	1,6	720	50	230
PVA1	0,20	0,8	101	74,6	3,2	860	40	100
LV5	0,34	1,7	33	19,1	1,5	590	30	380
PVA2	0,34	1,5	83	10,5	14,4	810	70	120
LV6	0,28	0,7	45	43,3	0,6	720	20	260
LV7	0,15	4,2	40	16,5	0,5	570	50	380
PVA3	0,39	0,7	38	24,4	1,0	740	50	210
PVA4	0,22	1,0	63	17,3	1,2	750	70	180
PV5A	0,20	1,1	43	22,2	0,9	860	40	100
LV8	0,28	1,2	22	29,1	0,6	590	10	400
LV9	0,15	2,1	23	11,8	0,9	660	40	300
PV6A	0,22	0,4	24	39,5	0,4	850	30	120
PVA7	0,27	0,7	15	31,4	1,4	900	30	70
PV8A	0,10	0,8	23	12,2	0,7	870	40	90

¹LV = Latossolo Vermelho; PVA = Argissolo Vermelho-Amarelo.

3.1.2 Ensaio de mineralização

Volume de cada solo equivalente a 0,5 dm³, suficiente para os três experimentos que foram conduzidos, depois de ter sido passado em peneira de 2mm foi tratado com carbonato de cálcio e hidroxicarbonato de magnésio (proporção Ca:Mg 2:1) para elevar o índice de saturação por bases a 70% (pH em CaCl₂ de aproximadamente 5,5).

Os solos misturados com os carbonatos foram transferidos para vasos de plástico com capacidade para 0,7 L, umedecidos a 60% da capacidade de retenção de água e colocados para incubar por 10 dias em casa de vegetação (08 a 17-04-2011). A manutenção da umidade foi feita diariamente, repondo a água perdida com base na variação de peso.

Após a incubação, os solos foram retirados dos vasos, colocados em caixas de plástico para secar e, então, foram destorroados e passados em peneira com 2 mm de abertura de malha, colocados em frascos de plástico com tampa e mantidos a 4°C em refrigerador.

A determinação da taxa de mineralização de N orgânico dos solos foi feita usando tubo percolador (18 cm de comprimento x 2 cm de diâmetro), contendo as amostras de solo, através das quais foi percolada solução extratora de N-mineral em intervalos de tempo predeterminados, seguindo a proposta de Stanford e Smith (1972), com modificações nos tempos e temperaturas de incubação. No experimento 1 a temperatura foi ajustada a 28°C e mantida durante todo o período de condução do experimento, conforme recomendando pela norma Cetesb P4.230, para determinação da taxa de mineralização do N de lodos de sistemas de tratamento biológico (CETESB, 1999). No experimento 2 foi usada combinação diária de 23°C por 10 horas e 28°C por 14 horas (23/28°C por 10/14 horas) e, no experimento 3, as amostras foram mantidas a 18/23°C por 10/14 horas. As temperaturas variáveis que foram avaliadas simulam a variação média diária das temperaturas do solo, no verão (experimento 2) e inverno (experimento 3), no município de Jaboticabal (VOLPE et al., 2006).

Em todos os experimentos foram utilizadas três repetições por tratamento (solos), totalizando 51 unidades experimentais em cada um. A determinação do N mineralizado foi feita antes do início da incubação (tempo 0) e aos 3; 7; 14; 21; 28; 49; 70; 91 e 112 dias de incubação.

Na instalação dos experimentos, massa equivalente a 15 cm³ de cada solo foi misturada à massa equivalente a 15 cm³ de areia fina, lavada com solução de HCl 6 mol L⁻¹. Nas colunas de percolação foi colocada primeiramente uma camada de lã de vidro de, aproximadamente, 3 cm. Sobre a lã de vidro foi colocada a mistura de solo + areia e, sobre o solo, outra camada de lã de vidro de, aproximadamente, 1

cm. Em cada data de avaliação, os tubos foram acoplados em kitassatos e foi feita lixiviação com 100 mL de solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. O lixiviado foi coletado para determinação de N-NH_4^+ e N-NO_3^- e, ao solo dos tubos foram adicionados 25 mL de solução nutritiva, menos N, contendo $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $0,002 \text{ mol L}^{-1}$, MgSO_4 $0,002 \text{ mol L}^{-1}$ e KH_2PO_4 $0,005 \text{ mol L}^{-1}$. O excesso de solução foi retirado aplicando vácuo de 10 cm de Hg (YAGI et al., 2009). Os tubos foram tampados com filme de plástico para minimizar as perdas de água, mas no filme foi feito orifício com agulha fina para permitir trocas gasosas. Os tubos foram mantidos em BOD nas temperaturas estabelecidas.

Dos lixiviados foram pipetadas alíquotas de 30 mL, as quais foram transferidas para tubos de destilação. Após o encaixe do tubo de destilação no suporte do destilador de N, adicionou-se 0,2 g de MgO p.a. por meio de medida calibrada, através da entrada lateral do tubo e, na saída do condensador do aparelho de destilação, foi colocado erlenmeyer com capacidade para 125 mL, contendo 10 mL de solução de H_3BO_3 20 g L^{-1} com mistura de indicadores (verde de bromocresol e vermelho de metila). Na destilação foram coletados 50 mL do destilado em aproximadamente 4 minutos. Encerrada a destilação, retirou-se o erlenmeyer com o destilado, e em seu lugar, foi colocado outro erlenmeyer com capacidade para 125 mL contendo 10 mL de solução de H_3BO_3 20 g L^{-1} + indicadores. Em seguida, adicionou-se ao tubo de destilação, através da entrada lateral, 0,2 g de liga de Devarda, com auxílio de medida calibrada, para a redução do N-NO_3^- a N-NH_3 . Na segunda destilação também foram coletados 50 mL de destilado em aproximadamente 4 minutos. A quantificação do N nas amostras foi feita por meio de titulação com solução de H_2SO_4 $0,0025 \text{ mol L}^{-1}$ (CANTARELLA; TRIVELIN, 2001).

Os resultados foram ajustados ao modelo exponencial de cinética de primeira ordem recomendado por Stanford e Smith (1972):

$$N_m = N_0(1 - e^{-kt}), \text{ em que:}$$

N_m : Nitrogênio mineralizado no tempo t;

N_0 : Nitrogênio potencialmente mineralizável;

k: constante de mineralização.

3.2 Determinação das frações do N orgânico de solos e do N-ISNT

3.2.1 Frações do N orgânico

O método de fracionamento do N utilizado foi o descrito em Mulvaney e Khan (2001), que foi aplicado às mesmas 17 amostras de solo utilizadas nos ensaios de mineralização em laboratório. De acordo com o método, inicialmente obtém-se o hidrolisado ácido das amostras de solo e, do procedimento, resulta um resíduo sólido. Nos hidrolisados neutralizados são determinadas as frações: N-total hidrolisável (N-TH), N-NH₄⁺ hidrolisável, N-NH₄⁺ + aminoaçúcares (N-NH₄⁺ + AAç) e N-aminoácidos (N-AA). A fração de N-aminoaçúcares é determinada pela diferença entre N-(NH₄⁺ + AAç) e N-NH₄⁺. No resíduo sólido é determinado o N-insolúvel em ácido.

3.2.1.1 Preparo do hidrolisado de solo

Cinco gramas de amostra de solo foram transferidos para balão de fundo redondo com capacidade para 125 mL; ao solo foram adicionadas duas gotas de álcool octil e 20 mL de solução de HCl 6 mol L⁻¹; em seguida, o balão foi conectado ao condensador de Liebig de 40 cm de comprimento, e mantido por 12 horas em banho de óleo, a 110-120°C. Após o término da hidrólise, o condensador foi lavado com 10 mL de água desionizada, retiraram-se as amostras do banho de óleo para esfriar até atingir a temperatura ambiente e decantar (aproximadamente 15 minutos). A filtragem do hidrolisado de solo foi feita em funil de Büchner de polipropileno (5,5 cm de diâmetro), ligado em sistema de vácuo, usando filtro de papel Whatman n° 50, com 5,5 cm de diâmetro. Para isto, foi transferida pequena quantidade do sobrenadante para o funil, para umedecer o papel de filtro, em seguida, foi adicionado o restante do hidrolisado, o qual foi recolhido em frasco de vidro de 125 mL. Em seguida, os frascos utilizados na hidrólise foram enxaguados 5 vezes usando, em cada lavagem, 5 mL de água desionizada, para transferência completa do hidrolisado de solo para o funil e, também, para diluição da acidez da amostra. O extrato foi armazenado em refrigerador (5°C). Para a neutralização do extrato, o hidrolisado ácido foi retirado do refrigerador e, uma vez em temperatura ambiente, foi transferido para béquer com capacidade para 250 mL. O acompanhamento da mudança no valor de pH foi realizado inserindo um eletrodo de vidro dentro do

hidrolisado, com agitação contínua, utilizando um agitador magnético. O hidrolisado foi neutralizado por meio da adição, gota a gota, de solução de NaOH 10 mol L⁻¹ até, aproximadamente, pH 5,0 e, a partir deste valor, com adição de solução de NaOH 1 mol L⁻¹ até obtenção de pH 6,5 a 6,8 (BREMNER, 1965; STEVENSON, 1996). Após o ajuste do valor de pH, o hidrolisado foi transferido para balão volumétrico com capacidade para 100 mL, o volume foi completado com água desionizada e mantido sob refrigeração (5°C) até análise.

a) N-total hidrolisável (N-TH) : Em tubo de digestão foram adicionados 5 mL de hidrolisado neutralizado, 0,5 g de mistura de K₂SO₄ + catalisadores (CuSO₄.5H₂O + Se) e 2 mL de H₂SO₄ 18 mol L⁻¹. Os tubos foram colocados em bloco de digestão, e submetidos a aquecimento por 1h30min a 150°C, 1 h a 250°C e 3 h a 350°C. Na boca dos tubos foi mantido funil de vidro (25 mm de diâmetro) para garantir refluxo eficiente do líquido durante a digestão e restringir perdas de H₂SO₄. Para cada conjunto de 11 amostras, foi analisada amostra padrão contendo 600 µg de N (300 µg de N-glucosamina.HCl e 300 µg de N-alanina). Após o resfriamento, foram adicionados 2 mL de água deionizada para diluir o extrato no tubo, os tubos foram agitados e o seu conteúdo foi transferido para câmaras de difusão com capacidade para 473 mL e fechamento hermético (Mason jar, Figura 1), repetindo a adição de água para garantir que todo o extrato fosse transferido. As paredes das câmaras de difusão foram lavadas com, aproximadamente, 5 mL de água desionizada e, em seguida, adicionados, com proveta, 10 mL de solução de NaOH 10 mol L⁻¹. Em até 30 segundos após a adição da solução de NaOH, os recipientes foram fechados com a tampa adaptada contendo a placa de Petri, na qual foram colocados 5 mL de solução de H₃BO₃ + indicadores. O recipiente foi movimentado suavemente para homogeneizar a amostra e colocado na chapa aquecedora a 48-50°C. Após 4 horas, as câmaras de difusão foram retiradas da chapa aquecedora, as placas de petri foram retiradas dos suportes e receberam 5 mL de água desionizada, realizando-se a titulação para determinação do N-NH₄⁺ com solução de H₂SO₄ 0,01 mol L⁻¹, até estabelecimento do pH final usando eletrodo para superfície plana acoplado a titulador automático. O pH final foi o pH da solução preparada pela mistura de 5 mL da solução indicadora de H₃BO₃ (40 g L⁻¹) e 5 mL de água desionizada.

b) N-NH_4^+ hidrolisável (N-AH): Dez mililitros de hidrolisado foram transferidos para câmara de difusão, seguindo-se adição de 0,05 g de MgO com medida calibrada. Agitou-se o recipiente para homogeneizar a amostra, ele foi fechado conforme descrito no item 3.2.2, e levado a chapa aquecedora por 2 h a 48-50 °C. Cada chapa aquecedora recebeu 11 amostras de hidrolisado de solo mais uma amostra de 1 mL de solução padrão de NH_4Cl contendo $300 \mu\text{g mL}^{-1}$ de N (0,114 g de NH_4Cl em 100 mL de água desionizada). A quantificação do N foi feita como descrito no item anterior.

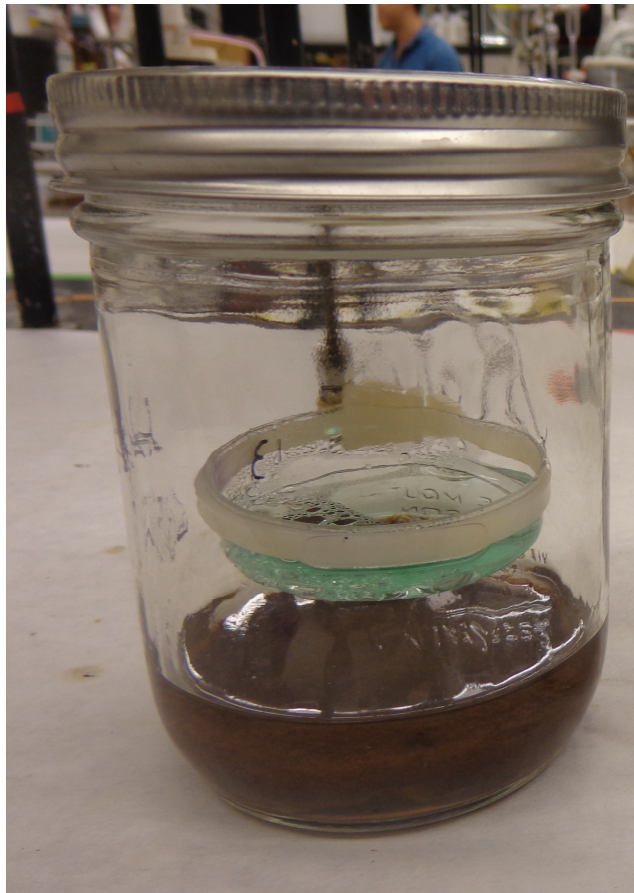


Figura 1. Recipiente com tampa de fechamento hermético (Mason jar) com as adaptações necessárias para determinação de N por difusão.

c) N-NH_4^+ + aminoácúcares (N-AAç): Em Mason jar foram adicionados 10 mL do hidrolisado de solo e 2 mL de solução de NaOH 10 mol L^{-1} . Após a homogeneização da amostra, em no máximo 30 segundos, o recipiente foi fechado (ver item 3.2.2) e levado a chapa aquecedora por 5 h a 48-50 °C. Cada chapa aquecedora recebeu 11 amostras de hidrolisado de solo mais uma amostra de 1 mL de solução padrão de

glucosamina.HCl contendo $300 \mu\text{g mL}^{-1}$ de N (0,462 g de glucosamina.HCl em 100 mL de água desionizada). A quantificação de N foi feita como descrito no item a.

d) N-aminoácidos (N-AA): Ao mesmo hidrolisado da fração anterior (item 3.2.3) e após a completa difusão do $\text{N}-(\text{NH}_4^+ + \text{AAç})$, foram adicionados 2,5 mL de solução de H_2SO_4 5 mol L^{-1} , seguidos de 1 mL de solução de ninhidrina (100 g L^{-1}). O recipiente foi agitado para homogeneizar a amostra e fechado, sem vedar, para diminuir a perda de água durante o aquecimento, utilizando tampa sem o suporte para placa de Petri. O aquecimento foi feito em chapa aquecedora durante 90 minutos a $95\text{-}100^\circ\text{C}$. Após resfriamento da amostra, foram adicionados 1 mL de solução de NaOH 10 mol L^{-1} , o extrato foi homogeneizado, os recipientes foram fechados com tampa modificada com suporte para placa de petri contendo 5 mL de solução de H_3BO_3 + indicadores e, em até 30 segundos, levados a chapa aquecedora por 2 h a $48\text{-}50^\circ\text{C}$. Cada chapa aquecedora recebeu 11 amostras de hidrolisado de solo mais uma amostra de 1 mL de solução padrão de alanina contendo $300 \mu\text{g mL}^{-1}$ de N (0,1908 g de alanina em 100 mL de água desionizada). Após esse período, o recipiente foi retirado da chapa aquecedora e a quantificação de N foi feita como já descrito no item a.

e) N-não identificado (N-NI): Essa forma foi calculada por meio da diferença entre o N-total hidrolisável e as frações N-NH_4^+ hidrolisável + N-AA + N-AAç.

3.2.1.2 N-insolúvel em ácido (N-IA): O decantado (resíduo) obtido do preparo do hidrolisado de solo foi transferido do funil de Büchner para placa de Petri. As placas de Petri foram colocadas em estufa a 105°C por 6 horas e após a secagem dos resíduos, levadas ao dessecador. Os resíduos secos foram moídos e pesados para a determinação de N-total, segundo Cantarella e Trivelin (2001), ou seja: 1 g de resíduo seco foi pesado e transferido para tubo de digestão; foram adicionados 1,5 g de K_2SO_4 + catalisadores e 2 mL de H_2SO_4 concentrado; os tubos foram colocados em bloco digestor e aquecidos a 90°C por 45 min; em seguida, os tubos foram cobertos com funil de vidro de 25 mm de diâmetro (para garantir refluxo eficiente do líquido e minimizar as perdas de ácido durante a digestão), e a digestão foi feita a 150°C por 1h30 min, a 250°C por 1h e, finalmente, a 350°C por 5h. Após a digestão, a determinação do N seguiu os passos descritos em 3.2.1.1, a.

3.2.2 Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT-N)

Foi empregado o procedimento descrito em Khan, Mulvaney e Hoefft (2001), ou seja: 1 g de solo foi tratado com 10 mL de solução de NaOH 2 mol L⁻¹ em câmara de difusão do tipo Mason jar com as adaptações descritas em Mulvaney et al. (1997) e Stevens et al. (2000). Antes do fechamento da câmara foram adicionados 5 mL de solução de H₃BO₃ 40 g L⁻¹ + indicadores em placa de petri, que permaneceu suspensa por meio das adaptações feitas na tampa das câmaras. As câmaras de difusão foram colocadas em chapas aquecedoras preaquecidas a 48-50°C. As amostras foram movimentadas na chapa aquecedora após 1,5h e 3h (conforme recomendação descrita em ¹⁵N ANALYSIS SERVICE, 2011) e retiradas após 5h de aquecimento. Cada chapa aquecedora recebeu 11 amostras de solo e uma amostra contendo 1 mL de solução padrão de glucosamina.HCl 250 µg mL⁻¹ de N (0,3849 g de glucosamina.HCl em 100 mL de água desionizada). As placas de petri foram retiradas do suporte e receberam 5 mL de água desionizada, realizando-se a determinação de N-NH₄⁺ por titulação com solução de H₂SO₄ 0,01 mol L⁻¹ até obtenção do valor de pH inicial da mistura de 5 mL da solução indicadora de H₃BO₃ + 5 mL de água desionizada, empregando eletrodo de superfície plana acoplado a titulador automático.

3.3 Determinação do N absorvido por plantas de milho em experimento em casa de vegetação

Foram usados os mesmos 17 solos (item 3.1.1), em delineamento inteiramente ao acaso com quatro repetições. A partir do peso médio de 1 dm³ dos solos, o equivalente a 4,5 dm³ de cada solo foi pesado e transferido para sacos de plástico com capacidade para 10 dm³. Foram calculadas e pesadas as quantidades de carbonatos de cálcio e de magnésio (proporção 2:1) para elevar o índice de saturação por bases a 70% (pH em CaCl₂ de aproximadamente 5,5). O carbonato de cálcio e o hidroxicarbonato de magnésio foram misturados, a seco, aos 4,5 dm³ de solo, e as porções de solo tratadas foram transferidas para vasos de plástico com capacidade para 5 L, os quais foram colocados sobre pratos de plástico.

Os vasos foram levados para casa de vegetação, e os solos foram umedecidos com água desionizada, a 60% da capacidade de retenção. Os vasos

foram pesados e os solos permaneceram incubando por 7 dias, cobertos com folhas de papel para reduzir as perdas de água por evaporação. O controle da umidade dos solos foi feito por meio de pesagem de todos os vasos e reposição da água perdida com água desionizada.

Aos 7 dias de incubação foi feita adubação mineral com fósforo, potássio, enxofre e micronutrientes. Para aplicação do fósforo, os solos foram separados em duas categorias, conforme a classe textural, sendo aplicados nos solos com textura muito argilosa e argilosa 120 mg dm^{-3} de P, e nos solos com textura média e arenosa, 80 mg dm^{-3} de P, na forma de KH_2PO_4 . O teor de potássio em todos os solos foi elevado a $8,87 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$, valor que resultou da soma do teor de K do solo com teor mais alto ($5,0 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$, LV3) mais o que foi adicionado juntamente com o KH_2PO_4 ($3,87 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de K), sendo a diferença, em cada solo, aplicada na forma de KCl. Foram aplicados, ainda, no solo de todos os vasos, 20 mg dm^{-3} de S.; $0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ de B; $1,0 \text{ mg dm}^{-3}$ de Cu; $1,5 \text{ mg dm}^{-3}$ de Zn e $0,02 \text{ mg dm}^{-3}$ de Mo, utilizando $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e $(\text{NH}_4)_6(\text{Mo}_7\text{O}_{24}) \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, respectivamente. Os sais foram aplicados na forma de solução.

A semeadura do milho foi feita no dia 17-02-12, a 1,5 cm de profundidade, utilizando 10 sementes (DKB 390 pró) por vaso. Sete dias após a semeadura foi realizado o desbaste, deixando cinco plantas por vaso. A manutenção da umidade dos solos foi feita com pesagens diárias de todos os vasos e reposição da água perdida, mantendo-a a aproximadamente 60% da capacidade de retenção de água.

Os primeiros sintomas de deficiência de N nas plantas de milho, caracterizados por amarelecimento das folhas mais velhas, a partir das pontas, começaram a aparecer cerca de 21 dias após a semeadura, nos solos 9, 14 e 17. O corte das plantas foi feito no dia 26-03-12, 38 dias após a semeadura, quando havia sintomas de deficiência de N nas plantas de todos os tratamentos (solos).

Na colheita, as plantas foram cortadas a cerca de 1 cm da superfície do solo dos vasos, e lavadas em água corrente, passadas em solução de detergente neutro $0,1 \text{ mL L}^{-1}$ e enxaguadas três vezes em água desionizada. Em seguida, foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 65°C - 70°C (CARMO et al., 2000), até peso constante, para obtenção da matéria seca. As plantas foram moídas em moinho tipo Willey e foi determinada a concentração de N-total, segundo Tedesco et al. (1995).

3.4 Determinação da mineralização de N de esterco bovino em laboratório

O esterco bovino utilizado (gado de corte) havia passado por processo de estabilização de mais de 6 meses em leiras a céu aberto e em pátio sem revestimento. Ele foi utilizado nos experimentos em campo e laboratório, sendo homogeneizado e amostrado. A determinação do valor de pH foi feita em amostra com a umidade natural, de acordo com o método descrito em Kiehl (1985). A umidade do esterco foi determinada a 60-65°C e o valor médio obtido foi 17,3%. As determinações de C e de nutrientes foram feitas nas amostras secas a 60-65°C, depois de trituradas em almofariz e passadas em peneira de 60 mesh.

A determinação do C orgânico foi feita empregando o método descrito em Brasil (2007); o N total, segundo Tedesco et al. (1995); o N mineral no esterco (N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻) foi extraído com solução de KCl 1 mol L⁻¹ (KIEHL, 1985) e o extrato foi destilado usando procedimento análogo ao que é utilizado para extratos de solo (CANTARELLA; TRIVELIN, 2001); os teores de P, K, Ca, Mg e S foram determinados em extratos de digestão nítrico-perclórica (CARMO et al., 2000). Os resultados, médias de três repetições, foram: pH, 6,9; N total, 11 g kg⁻¹; N-NH₄⁺, 61 mg kg⁻¹; N-NO₃⁻, 19 mg kg⁻¹; C-org, 260 g kg⁻¹; C/N, 24; P, 1,1 g kg⁻¹; K, 5,8 g kg⁻¹; Ca, 3,3 g kg⁻¹; Mg, 1,6 g kg⁻¹; S, 0,9 g kg⁻¹.

O solo utilizado para o experimento em laboratório foi coletado na área onde foi instalado experimento em campo, classificado como Latossolo Vermelho distrófico (EMBRAPA, 2006). Foi realizada amostragem de solo na camada de 0 a 20 cm e os resultados obtidos na análise química (RAIJ et al., 2001) foram: P resina, 15 mg dm⁻³; MO, 16 g dm⁻³; pH em CaCl₂, 5,5; K⁺, 1,2 mmol_c dm⁻³; Ca²⁺, 22 mmol_c dm⁻³; Mg²⁺, 11 mmol_c dm⁻³; H+Al, 22 mmol_c dm⁻³; Al³⁺, 0 mmol_c dm⁻³; SB, 34 mmol_c dm⁻³; CTC, 56 mmol_c dm⁻³; V, 61%; S-SO₄²⁻, 4 mg dm⁻³; B, 0,22 mg dm⁻³; Cu, 0,6 mg dm⁻³; Fe, 31 mg dm⁻³; Mn, 3,1 mg dm⁻³; e Zn, 0,8 mg dm⁻³.

O ensaio de mineralização foi instalado seguindo os mesmos procedimentos descritos no item 3.1.2, a 23/28°C por 10/14 horas. Os tratamentos utilizados foram solo com e sem a aplicação de dose equivalente a 20 t ha⁻¹ de esterco bovino, com três repetições. O solo, neste caso, não recebeu calcário, porque o valor de V% estava adequado para a cultura do milho (RAIJ et al., 1996). A determinação do N mineralizado foi feita antes do início da incubação (tempo 0) e aos 3; 7; 14; 21; 28;

49; 70; 91 e 112 dias de incubação. Os resultados foram ajustados ao modelo exponencial recomendado por Stanford e Smith (1972), também descrito anteriormente.

A fração de mineralização do N orgânico do esterco bovino foi determinada calculando a porcentagem de N orgânico aplicado que foi mineralizado em cada tempo de incubação, seguindo o procedimento descrito na Norma P4.230, anexo E, da Cetesb (CETESB, 1999):

$$FM = (N_{me} - N_m) \cdot 100 / N_{adicionado}$$

em que:

FM: porcentagem de N mineralizado a partir do N orgânico que foi aplicado na forma de esterco;

N_{me} : N-mineralizado no tratamento com esterco (mg kg^{-1});

N_m : N-mineralizado no tratamento sem esterco (mg kg^{-1});

$N_{adicionado}$: quantidade de N adicionada (mg kg^{-1}).

3.5 Determinação da mineralização do esterco bovino em campo

Foi instalado experimento em campo com cinco doses de esterco bovino (0, 10, 20, 30 e 40 t ha^{-1}) e a determinação da taxa de mineralização foi feita nas parcelas-testemunha e nas que receberam dose equivalente a 20 t ha^{-1} . O método de avaliação da mineralização do N orgânico do esterco foi o dos tubos de PVC abertos contendo amostras de solo indeformadas e com resina trocadora de íons no fundo do tubo (KOLBERG et al.,1997).

3.5.1 Preparo da resina trocadora de íons

A resina utilizada no experimento de campo foi a Purolite[®] MB-400, tendo como grupo funcional o ácido sulfônico e quaternário de amônia, forma iônica original H^+ e OH^- , peso específico de 705 a 740 kg m^{-3} e composta por, aproximadamente, 60% da forma aniônica e 40% de forma catiônica. Previamente a instalação do experimento em campo, foram realizados testes, primeiramente para verificar a presença de contaminantes na resina. Foi realizada extração sequencial com alíquotas de 25 mL de solução de KCl 2 mol L^{-1} , com agitação por 15 minutos, cinco vezes. Após as cinco extrações, o volume total de extrato obtido foi

homogeneizado e alíquota de 25 mL foi transferida para tubo de destilação para quantificação de N-NH_4^+ e N-NO_3^- , de acordo com o procedimento descrito anteriormente (CANTARELLA; TRIVELIN, 2001). Verificou-se que a resina continha $170,2 \text{ mg kg}^{-1}$ de N-NH_4^+ , e não continha N-NO_3^- . Deste modo, optou-se pelo tratamento da resina trocadora de íons, de acordo com procedimentos descritos em Raij et al. (2001) para resinas utilizadas em laboratórios de análise de solo. Após o processo de lavagem e tratamento da resina, ela foi armazenada em baldes, em água desionizada.

Foi determinada a capacidade de retenção de água pela resina empregando amostra de 30 g, em triplicata, a qual foi transferida para béquer contendo água desionizada. Após uma hora a resina foi retirada do béquer e transferida para peneira, para eliminação do excesso de água, e pesada. A capacidade de retenção determinada foi de 50% do peso e, por isso, a massa de resina utilizada no experimento em campo foi de 45 g e não 30 g, como estabelecido no método de referência.

A resina preparada foi embalada em malha elástica, composta por 98% de poliamida e 2% de elastano. Os sacos contendo a resina trocadora de íons foram colocados em baldes de plástico, com capacidade para 5 litros, e permaneceram imersos em água desionizada até o momento em que foram usados.

3.5.2 Instalação e condução do experimento no campo

A área onde foi realizado o experimento em campo foi arada e gradeada no dia 31-10-2012 e, como os teores de Ca e Mg e o valor de V% estavam adequados para a cultura do milho (item 3.4), de acordo com Raij et al. (1996), não foi feita aplicação de calcário.

A instalação do experimento em campo foi realizada nos dias 02-11-2012 (blocos 1 e 2) e 03-11-2012 (blocos 3 e 4).

Os dados meteorológicos do período de condução do experimento foram extraídos do conjunto de dados pertencentes ao acervo da área de Agrometeorologia do Departamento de Ciências Exatas e estão apresentados nas Figuras 2 e 3. O total mensal de precipitação foi: 200, 171, 189 e 65 mm nos meses de novembro e dezembro de 2011, e janeiro e fevereiro de 2012, respectivamente,

com total acumulado de 624 mm nos quatro meses de condução do experimento (Figura 2).

As médias mensais das temperaturas foram: 24,7; 25,0; 23,6 e 26,2°C para os meses de novembro e dezembro de 2011, e janeiro e fevereiro de 2012, respectivamente, e a média do período foi de 24,9°C (Figura 3).

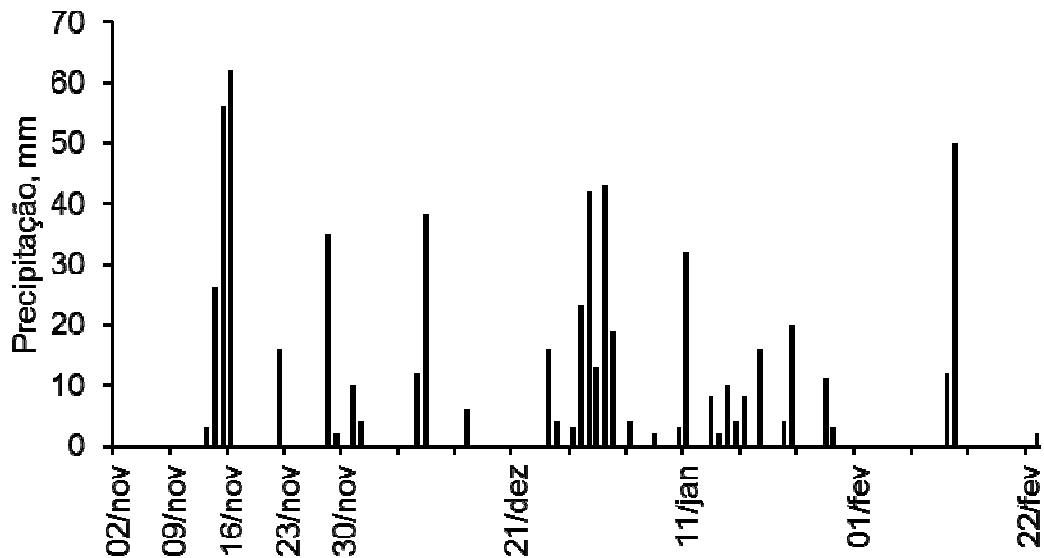


Figura 2. Distribuição das chuvas (mm) no período de 02-11-2011 a 23-02-2012, durante os 112 dias de incubação em experimento em campo, com as datas de avaliação do N nos tubos e resina trocadora de íons.

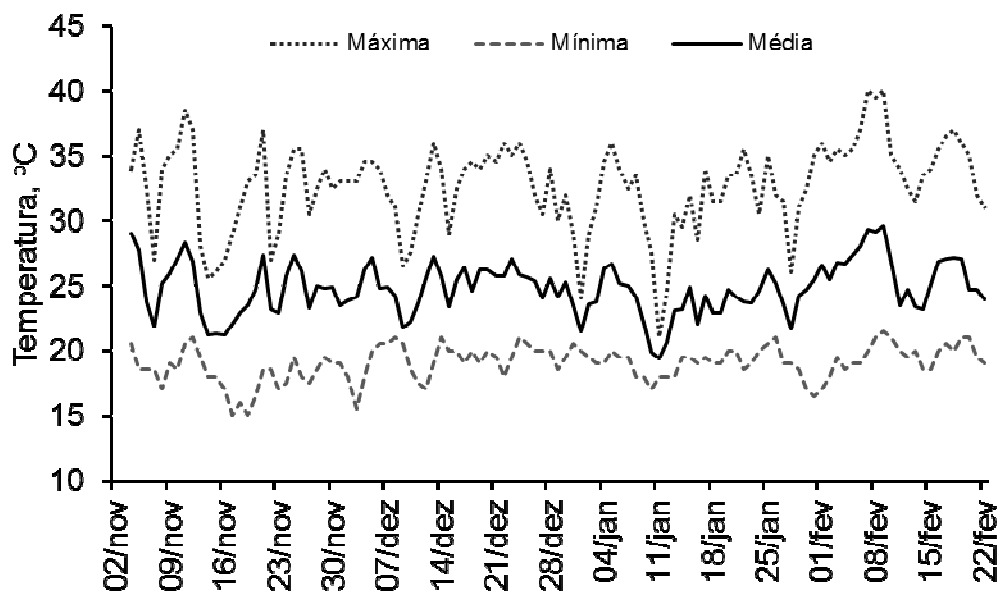


Figura 3. Temperatura diária do solo (máxima, média e mínima) durante experimento de campo (02-11-2011 a 23-02-2012).

Antes da semeadura do milho foi feita distribuição manual do esterco e incorporação com o auxílio de enxada (0-18 cm). As doses aplicadas foram 0, 10, 20, 30 e 40 t ha⁻¹. O delineamento utilizado foi em blocos ao acaso, com quatro repetições (Figura 4). As parcelas foram constituídas por oito linhas de milho espaçadas de 0,8 m, com 7 metros de comprimento (44,8 m²). A população utilizada foi de 62.500 plantas por hectare (5 plantas de milho por metro linear). As duas linhas externas e 0,5 m em cada um dos extremos da parcela foram consideradas bordaduras.

As quantidades de esterco a serem aplicadas por parcela foram calculadas e corrigidas em função da umidade. Considerando as doses de esterco utilizadas (0, 10, 20, 30 e 40 t ha⁻¹) e o N-total do esterco (11 g kg⁻¹), foram aplicados: 0, 110, 220, 330 e 440 kg ha⁻¹ de N, respectivamente. Para obter maior uniformidade na distribuição manual do esterco na área, cada parcela foi dividida em 8 faixas de 0,8 m de largura.

Após a distribuição do esterco bovino, ele foi incorporado com enxada, a 18-20 cm de profundidade. Após a incorporação do esterco bovino nas parcelas, foram abertos sulcos com enxada espaçados 0,8 m entre si, e com 5 cm de profundidade. A semeadura foi manual, colocando 10 sementes de milho (DKB 390 pró) por metro de linha.

Após incorporação do esterco e semeadura do milho, foram introduzidos 26 tubos de PVC (7,2 cm de diâmetro e 21 cm de altura) em cada parcela, nas entrelinhas (Figura 5a). Em seguida, os tubos contendo amostras indeformadas foram removidos do solo. Para a remoção dos tubos retirou-se solo das laterais e fez-se movimento de rotação (Figura 5b). Foi removido 1 cm de solo da parte inferior dos tubos com o auxílio de uma espátula (Figura 5c), e neste espaço foi colocado o saco de malha elástica contendo a resina trocadora de íons. Para garantir o contato entre o solo e a resina e manter o conjunto foi usada rede de nylon (Figura 5d). Em seguida, os tubos com a resina foram reinsertos no solo, fazendo-se pressão para garantir a total introdução do tubo e o contato da resina com o solo. No momento da instalação dos tubos no campo, foram retirados dois tubos por parcela, sem resina, para determinar os teores iniciais de N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻.

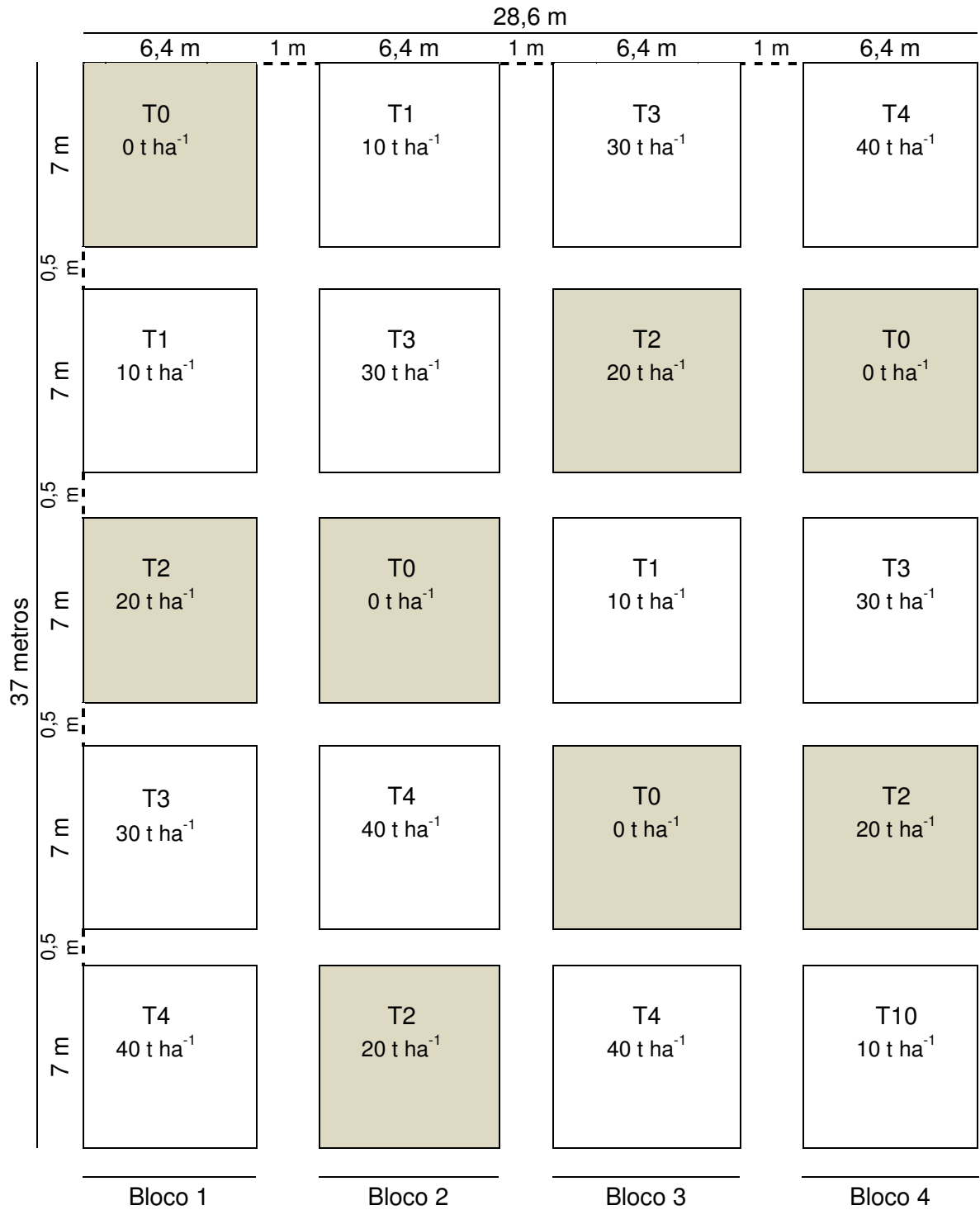


Figura 4. Croqui da área experimental, destacando as parcelas em que foram instalados os tubos com resina trocadora de íons.

A emergência das plantas iniciou em 08-11-2012 e no dia 18-11-2012, 10 dias após emergência (DAE), foi realizado o desbaste, deixando 5 plantas por metro. Para garantir a emergência das plantas foram feitas duas irrigações com regador, na

linha de semeadura, a primeira cinco dias após a semeadura e a segunda, três dias após a primeira.

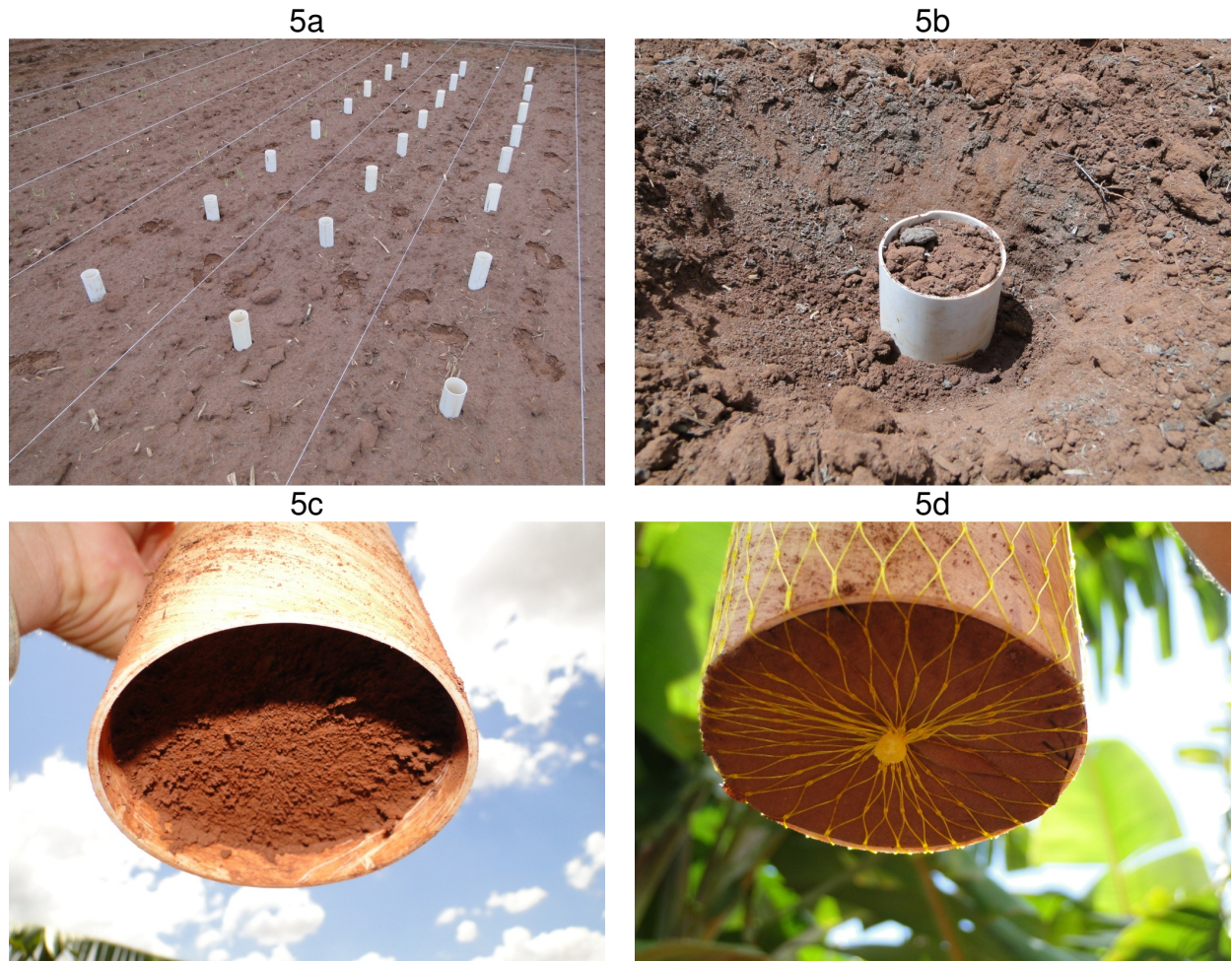


Figura 5. Etapas da retirada dos tubos e colocação da resina no fundo do tubo: a) introdução dos tubos no solo; b) retirada do tubo; c) retirada de 1 cm de solo da parte inferior do tubo; d) conjunto tubo + saco com resina trocadora de íons no fundo, envolvido por rede de nylon.

No dia 08-12-2012, 30 DAE das plantas de milho, foram aplicados 70 kg ha^{-1} de K_2O (KCl) em cobertura, de acordo com Raij et al. (1996), considerando a produtividade esperada de 6 a 8 t ha^{-1} de grãos de milho, e a dose recomendada para aplicação na semeadura (50 kg ha^{-1} de K_2O) + a dose recomendada para aplicação em cobertura (20 kg ha^{-1} de K_2O). Capinas e retirada de plantas daninhas de dentro dos tubos foram realizadas periodicamente, ao longo do ciclo da cultura.

Os tubos foram retirados do campo aos 3, 7, 14, 21, 28, 49, 70, 91 e 112 dias após incorporação do esterco bovino e semeadura do milho. Após retirar os

tubos do campo, o conjunto tubo + saco com resina foram levados ao laboratório, a tela de nylon foi retirada, e o saco contendo a resina e o tubo contendo o solo foram separados. A resina foi lavada sequencialmente em três recipientes contendo água desionizada, para retirar o solo, e colocada em erlenmeyer de 125 mL. O N retido na resina de cada tubo foi extraído com cinco agitações sucessivas de 15 minutos, usando, em cada uma, 25 mL de solução de KCl 2 mol L⁻¹. Após recolher o extrato das cinco agitações em um mesmo frasco, foi feita homogeneização e transferência de 25 mL para tubos de destilação com entrada lateral fechada por tampa de rosca. O procedimento de destilação foi feito da forma já descrita para os experimentos em laboratório (item 3.1.2).

Os tubos contendo solo foram pesados e o solo foi retirado do tubo. Após destorroamento e homogeneização do solo, foram pesados 10 g de solo para determinação da umidade. Outros 10 g de solo foram pesados e transferidos para erlenmeyer de 250 mL. Acrescentou-se 100 mL de solução de KCl 1 mol L⁻¹ e agitou-se por uma hora, deixando em repouso por uma hora para a decantação do solo e obtenção de extrato límpido. Alíquota de 25 mL de extrato foi transferida para tubos de destilação, e a quantificação das formas minerais de N foi feita conforme já descrito (item 3.1.2).

Os valores de N mineralizado no solo foram determinados de acordo com Egbhall (2000): dos teores de N-NH₄⁺ e de N-NO₃⁻ obtidos em cada amostragem foi feita a subtração dos teores iniciais (tempo 0); o resultado foi multiplicado pelo peso seco total do solo de cada tubo. O N determinado na resina (N-NO₃⁻) foi somado ao N do solo. Com os resultados de N mineralizado (N-NO₃⁻ e N-NH₄⁺) foi calculada a fração de mineralização do N do esterco, de acordo com a fórmula apresentada no item 3.4, e ainda, os resultados foram ajustados ao modelo exponencial de cinética de primeira ordem, recomendado por Stanford e Smith (1972), descrito no item 3.1.

Para obtenção do N absorvido pelas plantas de milho, em cada tempo de amostragem dos tubos com resina, em campo, após a emergência das plantas e até os 112 dias após a semeadura, foram coletadas cinco plantas de milho (1 metro) dos tratamentos 0 e 20 t ha⁻¹ de esterco bovino. Admitindo a bordadura como linha 1, as amostragens de plantas foram feitas nas linhas 2 a 4, conforme esquema da Figura 6. Após a coleta das plantas em campo, elas foram levadas para laboratório, onde

foram lavadas em água corrente e em solução de detergente neutro (1 ml L^{-1}), enxaguadas em água corrente e água deionizada, e colocadas em estufa com circulação forçada de ar ($60\text{-}65^\circ\text{C}$) para secagem. Após obter peso constante, a matéria seca foi moída para determinação de N total, conforme o método descrito em Tedesco et al. (1995). A matéria seca e a concentração de N nas plantas de milho foram utilizadas para calcular as quantidades de N absorvidas.

No dia 02-03-2012 foram colhidas as espigas de duas linhas de plantas (linhas 6 e 7, Figura 6), desprezando 0,5 m de cada extremidade. Após a trilhagem dos grãos foi feita pesagem e coleta de amostras para determinação de umidade. Nas parcelas em que não foram feitas amostragens de plantas a produção foi avaliada nas mesmas linhas.

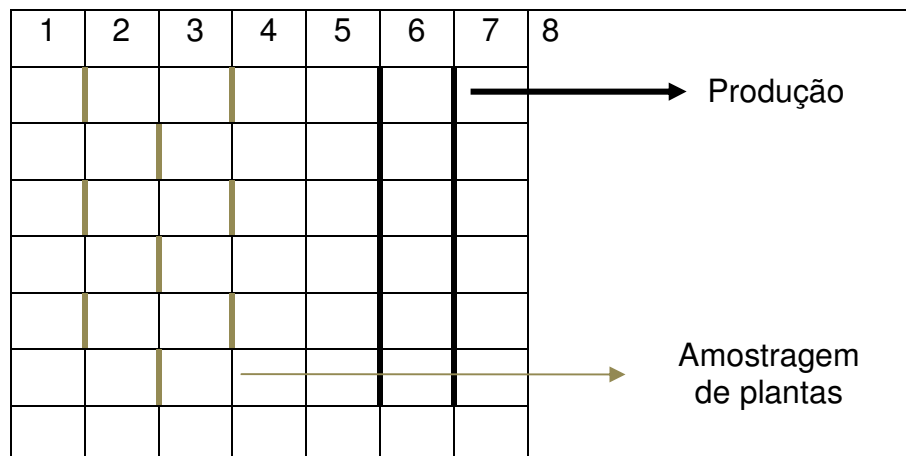


Figura 6. Esquema da parcela, com definição do procedimento de amostragem de plantas e de avaliação de produção.

Os resultados de N absorvido pelas plantas de milho (Nabs) e a produção de milho foram correlacionados com o N mineralizado em campo, em cada data de amostragem, e com o N_0 , obtido por meio do ajuste ao modelo exponencial de cinética de primeira ordem.

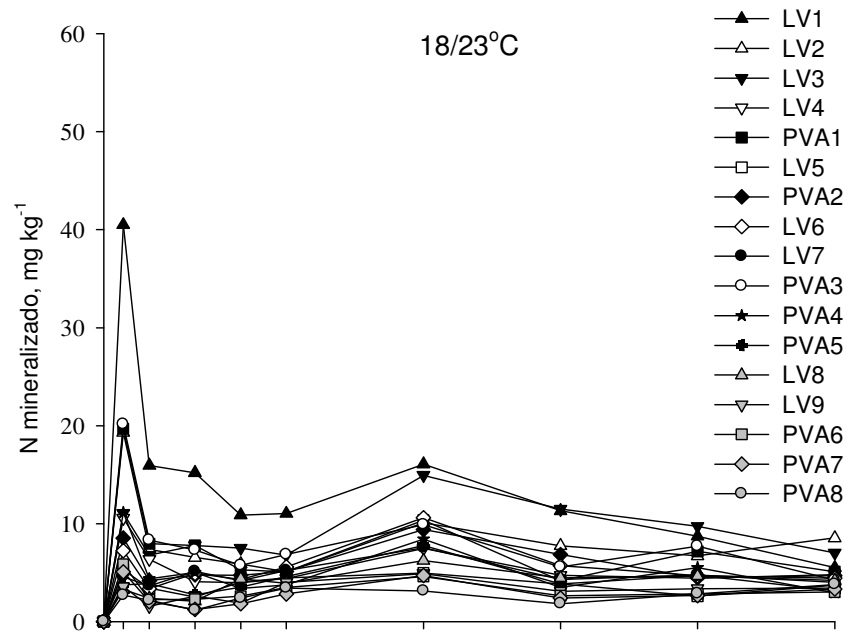
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação da mineralização do N orgânico de solos em laboratório

A maior quantidade de N mineralizado foi obtida na primeira avaliação (3 dias de incubação), em todos os solos, nas três condições de temperatura, 18/23°C por 10/14h, 23/28°C por 10/14h e 28°C (Figuras 7, 8 e 9, respectivamente). Passada a máxima liberação inicial de N houve diminuição da quantidade mineralizada até 28 dias, aumento no intervalo de 28 a 49 dias, e posterior decréscimo até o fim do período de incubação (Figura 7a, 8a e 9a). Entre 28 e 49 dias as avaliações foram em intervalos maiores, passando de 7 para 14 dias, e isso justifica o acúmulo. A diferença entre as temperaturas de incubação foi constatada, principalmente, após os 49 dias de incubação: a 18/23°C e a 28°C a quantidade mineralizada diminuiu, mas a 23/28°C não houve decréscimo, a quantidade mineralizada manteve-se por mais uma avaliação, e isso resultou em valores de N mineralizado acumulado (N_{mac}) maiores.

Em todas as temperaturas, o pico aos três dias de incubação pode ser atribuído à decomposição de moléculas orgânicas de baixo peso molecular e de fácil mineralização (AGEHARA; WARNCKE, 2005; RHODEN et al., 2006; YAGI et al., 2009), e a diminuição das quantidades mineralizadas após o período inicial deve-se à mineralização mais lenta e difícil de compostos orgânicos de maior peso molecular e de maior recalcitrância (PARKER; SOMMERS, 1983; YAGI et al., 2009). O resultado obtido na fase inicial deve-se ao preparo das amostras que, antes de serem usadas na instalação das colunas de lixiviação, foram secas e passadas em peneira de 2 mm. Este procedimento estimula a atividade microbiana pelo aumento da aeração e, devido à quebra de agregados, ocorre exposição de componentes orgânicos que, em condições naturais, estariam protegidos da ação microbiana (STANFORD; SMITH, 1972; CAMARGO; GIANELLO; VIDOR, 1997a). Ainda, as amostras de solo utilizadas nas colunas receberam carbonatos para elevar o valor de V a 70% e, de modo geral, admite-se que a calagem aumenta as quantidades de N mineralizado porque aumenta os valores de pH e os teores de bases trocáveis, e diminui o Al³⁺ tóxico, condições que favorecem a atividade de organismos mineralizadores (SILVA et al., 1999).

a



b

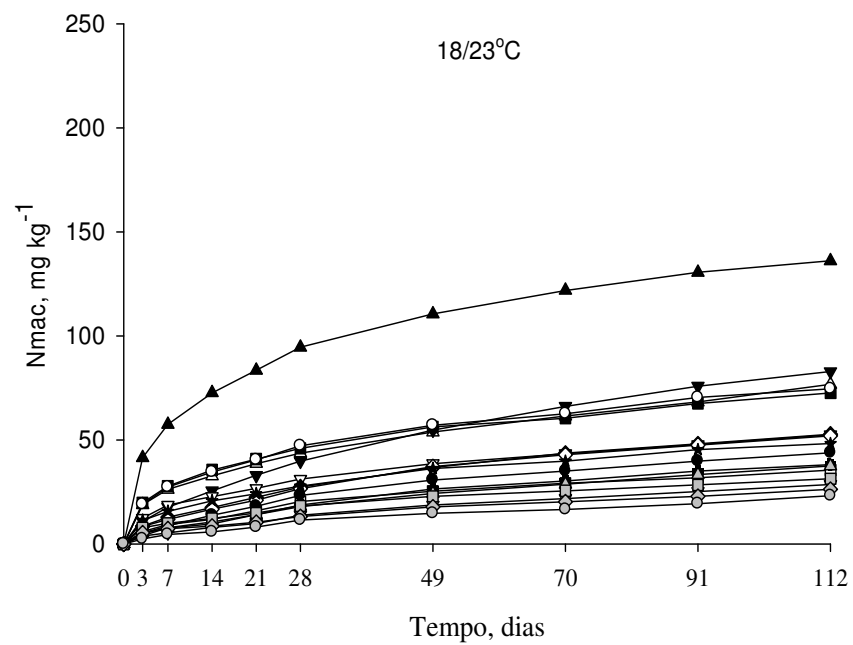
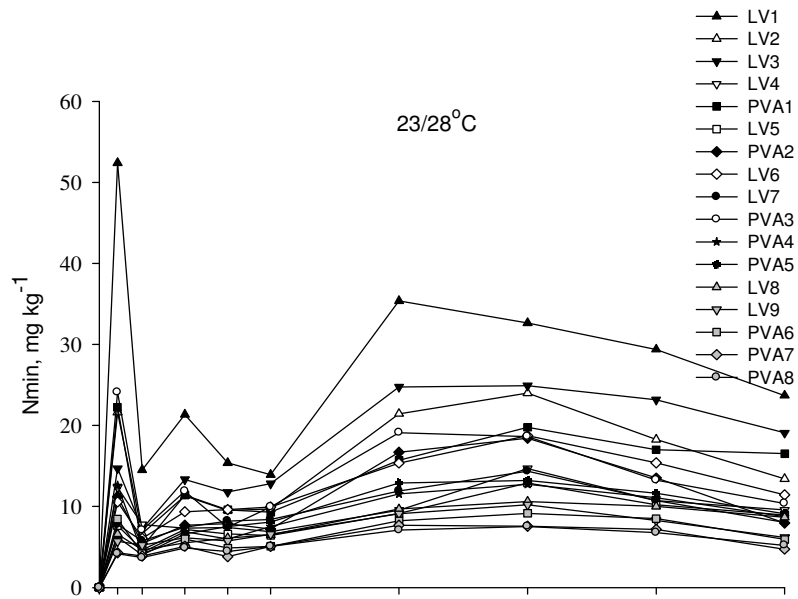


Figura 7. Nitrogênio mineralizado (a) e nitrogênio mineralizado acumulado (b) em amostras de 17 solos, incubados por 112 dias, a 18/23°C por 10/14 horas.

a



b

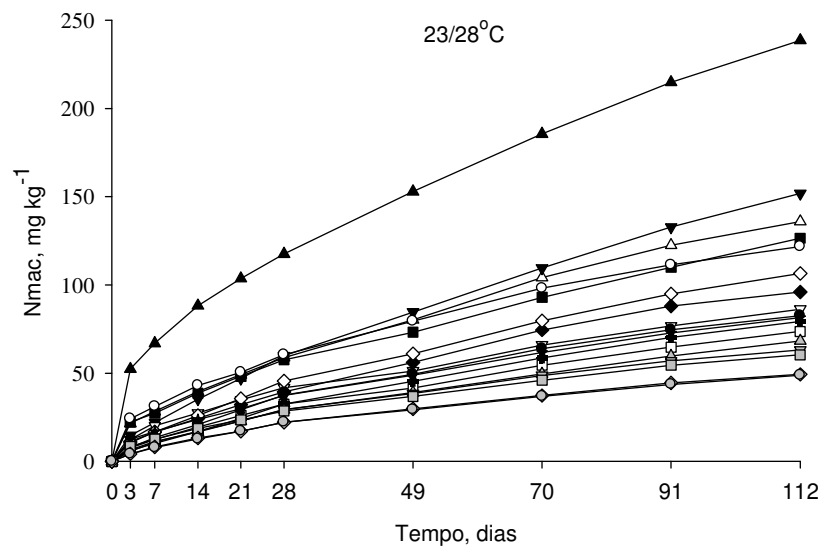
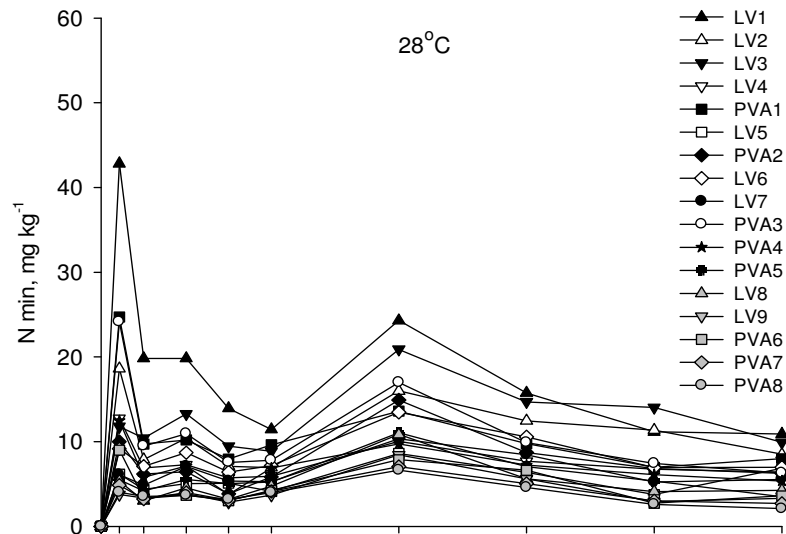


Figura 8. Nitrogênio mineralizado (a) e nitrogênio mineralizado acumulado (b) em amostras de 17 solos, incubados por 112 dias, a 23/28°C por 10/14 horas.

a



b

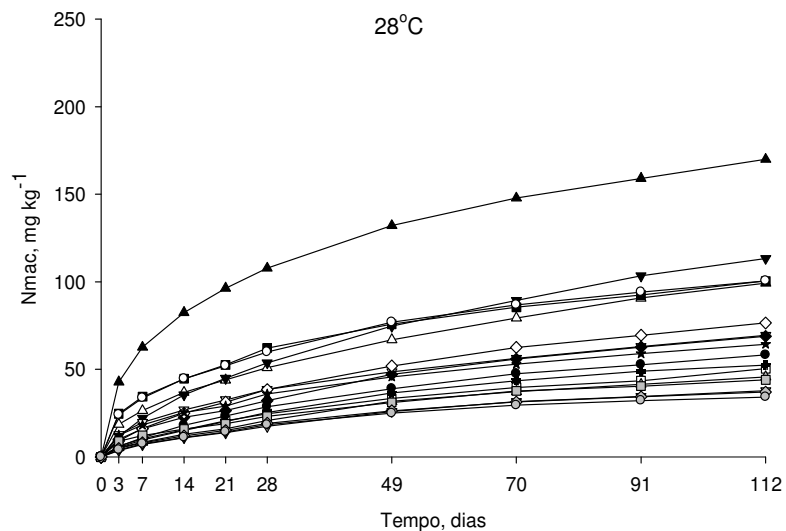


Figura 9. Nitrogênio mineralizado (a) e nitrogênio mineralizado acumulado (b) em amostras de 17 solos, incubados por 112 dias, a 28°C.

A tendência observada, de aumento inicial seguido de decréscimo na mineralização, é comum em experimentos de incubação de solos de longa duração, em condições controladas (AGEHARA; WARNCKE, 2005; YAGI et al., 2009; MARIANO et al., 2013). A partir deste comportamento constatado no experimento de mineralização, os resultados de Nmac (Figura 7b, 8b e 9b) ajustaram-se ao modelo exponencial de cinética de primeira ordem (STANFORD; SMITH, 1972), para todos

os solos, em todas as condições de temperatura de incubação, com valores de R^2 variando de 0,96** a 0,99** (Tabela 3). Para o ajuste dos dados ao modelo foi feita a subtração do N inicial do solo para evitar erros causados pelo fluxo inicial de N decorrente do manuseio e preparo das amostras (STANFORD; SMITH, 1972), e este procedimento resultou em diminuição média de 49, 36 e 41% do total de N mineralizado durante os 112 dias de incubação a 18/23°C, 23/28°C e 28°C, respectivamente.

Tabela 3. Nitrogênio mineralizado acumulado (Nmac), N potencialmente mineralizável (N_0), constante de mineralização (k) e coeficiente de determinação (R^2) obtidos para os 17 solos incubados por 112 dias a 18/23°C ou 23/28°C por 10/14 horas, e a 28°C.

Solos ^I	18/23°C				23/28°C				28°C			
	Nmac ^{II}	N_0	k	R^2	Nmac	N_0	k	R^2	Nmac	N_0	k	R^2
	-- mg kg ⁻¹ --		dia ⁻¹		-- mg kg ⁻¹ --		dia ⁻¹		-- mg kg ⁻¹ --		dia ⁻¹	
LV1	136	126	0,062	0,97**	239	232	0,028	0,97**	170	157	0,050	0,98**
LV2	77	70	0,041	0,96**	136	152	0,018	0,98**	99	97	0,029	0,98**
LV3	83	87	0,022	0,99**	152	196	0,012	0,99**	113	120	0,022	0,99**
LV4	53	48	0,042	0,97**	86	89	0,022	0,98**	69	66	0,033	0,99**
PVA1	73	66	0,052	0,96**	127	132	0,020	0,98**	101	93	0,044	0,98**
LV5	36	34	0,031	0,99**	74	85	0,016	0,99**	50	51	0,024	0,99**
PVA2	53	53	0,027	0,99**	96	118	0,015	0,99**	69	72	0,023	0,99**
LV6	52	53	0,025	0,99**	107	129	0,015	0,99**	77	79	0,024	0,99**
LV7	44	45	0,025	0,99**	83	95	0,017	0,99**	58	61	0,023	0,99**
PVA3	75	69	0,047	0,97**	122	122	0,026	0,98**	101	95	0,041	0,98**
PVA4	48	46	0,039	0,97**	82	88	0,019	0,98**	64	62	0,033	0,98**
PVA5	38	41	0,021	0,99**	79	104	0,012	0,99**	52	57	0,021	0,99**
LV8	38	40	0,020	0,99**	68	81	0,015	0,99**	46	50	0,020	0,99**
LV9	29	31	0,020	0,99**	63	71	0,018	0,99**	38	41	0,020	0,99**
PVA6	31	29	0,037	0,97**	60	64	0,021	0,99**	44	44	0,029	0,99**
PVA7	26	26	0,027	0,97**	49	57	0,017	0,99**	37	39	0,025	0,99**
PVA8	23	24	0,020	0,99**	49	56	0,017	0,99**	34	36	0,026	0,99**

^I LV = Latossolo Vermelho; PVA = Argissolo Vermelho-Amarelo; ^{II} Nmac: nitrogênio mineralizado acumulado; **Significativo a 1% de probabilidade.

Os maiores valores de Nmac ao fim de 112 dias foram obtidos com incubação a 23/28°C (média de 98 mg kg⁻¹ de N), os quais foram 36% e 82% maiores do que os obtidos a 28°C (média de 72 mg kg⁻¹ de N) e a 18/23°C (média de 54 mg kg⁻¹ de N), respectivamente (Tabela 3). Por isso, os valores de N_0 a 23/28°C (média de 110 mg kg⁻¹ de N) foram 53% e 112% maiores do que os determinados a

28°C (média de 72 mg kg⁻¹ de N) e a 18/23°C (média de 52 mg kg⁻¹ de N), respectivamente. O aumento da taxa de mineralização com o aumento da temperatura é esperado e há relatos de aumento de duas (STANFORD et al., 1973) a três vezes da taxa (AGEHARA; WARNCKE, 2005) a cada elevação de 10°C. No presente estudo não foi obtida diferença de 10°C entre os procedimentos de incubação e, por isso, o aumento da mineralização nas temperaturas maiores (28 e 23/28°C) foi menor do que os relatados por Agehara e Warncke (2005), e ficou entre 1,4 e 2 vezes o obtido a 18/23°C. A 23/28°C a mineralização foi 1,5 vezes maior do que a 28°C. Segundo Agehara e Warncke (2005), o aumento na mineralização líquida de N em temperaturas mais altas foi devido à metabolização de substratos que não são utilizados pelos microrganismos em temperaturas baixas, o que está de acordo com Koch, Tschërko e Kandeler (2007), que afirmaram que a ciclagem de compostos mais recalcitrantes da MO, de maior peso molecular, é muito dependente da ocorrência de temperatura alta no solo.

Conforme comentado anteriormente, os valores de N₀ obedeceram a seguinte ordem decrescente, de acordo com as temperaturas de incubação: 23/28°C > 28°C > 18/23°C. Menor taxa de mineralização do N em temperaturas mais baixas é relatada com frequência na literatura (SIERRA, 2002; AGEHARA; WARNCKE, 2005; KOCK; TSCHERKO; KANDELER, 2007), mas mineralização maior a 23/28°C do que a 28°C não foi relatada na literatura consultada. Considerando que a umidade foi mantida constante e semelhante para ambos os ensaios de incubação, a temperatura variável de 23/28°C pode ter induzido a mudança na comunidade microbiana, favorecendo a ciclagem do N, particularmente a nitrificação. Houve menor proporção de N-NH₄⁺ em relação a N-NO₃⁻, no total mineralizado em 112 dias, nas três condições de temperatura, sendo que a 18/23°C, 43% do N-mineral estava na forma de N-NH₄⁺ e 57% na forma de N-NO₃⁻, e a 23/28°C e 28°C, 38% estava como N-NH₄⁺ e 62% como N-NO₃⁻. Deste modo, a nitrificação foi maior em temperaturas mais altas e, nesta etapa das transformações do N admite-se que o ótimo está entre 26 e 32°C (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002), intervalo no qual estão inseridas as maiores temperaturas de incubação aqui utilizadas.

O N₀ é considerado a fração ativa do N_t (CAMPBELL; MYERS; WEIER, 1981), e, nos 17 solos avaliados ele variou de 1,8 a 6,0%, com média de 3,5% a

18/23°C, de 4,3 a 12,1%, com média de 7,4% a 23/28°C e de 2,6 a 8,5%, com média de 4,9% a 28°C (Tabelas 2 e 3). Os valores são menores que os 16,5% obtidos por Yagi et al. (2009), média de 22 amostras de solos do Estado de São Paulo, após 30 semanas de incubação a 35°C, e a diferença pode ser atribuída ao aumento da atividade microbiana e, conseqüentemente, ao maior consumo do N orgânico a 35°C do que nas condições avaliadas no presente trabalho, além do maior tempo de incubação adotado pelos autores. De acordo com os resultados do presente trabalho, tem-se que, em média, 3,5 a 7,4% do Nt do solo, oriundos da MO, principal fonte de N (GONÇALVES; MENDES; SASAKI, 2001), foram decompostos em 112 dias de avaliação.

Os maiores valores de k (Tabela 3), como era esperado, foram obtidos nos solos com maiores teores de MO (Tabela 2), o que está de acordo com o pressuposto de Stanford e Smith (1972), segundo o qual os valores de N_0 e k são maiores quando há maior quantidade de substrato para os microrganismos do solo.

Os valores de N_0 foram maiores do que o N_{mac} em 67% dos solos, mas a diferença entre ambos foi menor do que 5 mg kg⁻¹ de N em 59% dos solos. Gonçalves, Mendes e Sasaki (2001), em temperatura de incubação constante de 20°C, e Yagi et al. (2009), empregando 35°C, obtiveram superestimação dos resultados de N_0 para 16 e 22 amostras de solos do Estado de São Paulo, respectivamente. Deste modo, apesar de os dados terem ajustado adequadamente à equação exponencial simples, o uso do N_0 como índice de disponibilidade de N pode ser questionado, uma vez que tanto para os autores citados, quanto no presente estudo, os resultados estimados são maiores do que os valores reais de N mineralizado acumulado ao fim do tempo de incubação. No trabalho de Stanford e Smith (1972), os autores pressupõem que haja estabilização (platô) no N_{min} após a determinação do N inicial (oriundo do manuseio e reumedecimento da amostra de solo) e o consumo do N de fácil mineralização, mas no presente trabalho, houve apenas diminuição na mineralização do N, mas não ocorreu estabilização em nenhuma das temperaturas de incubação, assim como no caso de Yagi et al. (2009), justificando a superestimação com o uso do N_0 . Por outro lado, Gonçalves, Mendes e Sasaki (2001) obtiveram estabilização nos valores de N_{min} entre 8 e 15 semanas de incubação.

Independentemente da temperatura de incubação utilizada, os maiores valores de N_{mac} em 112 dias foram obtidos no solo LV1 (Figuras 7b, 8b e 9b), com maior teor de MO (75 g dm^{-3}), seguido pelo LV2 (63 g dm^{-3} de MO), com diferença média entre ambos de 77 mg dm^{-3} de N. Em relação ao solo com menor teor de MO, PVA8 (9 g dm^{-3}), a diferença chegou a 146 mg dm^{-3} de N. Estes resultados eram esperados, uma vez que solos com maior teor de MO possuem maior reservatório de N orgânico suscetível a mineralização (STANFORD; SMITH, 1972; CARNEIRO et al., 2013).

A partir das densidades dos solos das amostras deformadas e da profundidade de coleta das amostras (0-20 cm), os valores de N_0 foram convertidos de mg kg^{-1} para kg ha^{-1} para os 17 solos. A 28°C o intervalo obtido foi de 106 a 394 kg ha^{-1} de N, com média de 185 kg ha^{-1} ; a $18/23^\circ\text{C}$, a variação foi de 72 a 314 kg ha^{-1} de N, e média de 135 kg ha^{-1} ; e a $23/28^\circ\text{C}$, os valores foram de 167 a 579 kg ha^{-1} de N, com média de 284 kg ha^{-1} . Nos solos com teores maiores de MO, as quantidades parecem ser maiores do que seria esperado obter em condições naturais, sobretudo porque o efeito do manuseio da amostra e da calagem foi subtraído da quantidade total mineralizada. Comparando as quantidades mineralizadas com as quantidades de N absorvidas por plantas de milho em condições de campo, 115 kg ha^{-1} (LARA CABEZAS et al., 2000) e 114 kg ha^{-1} (GAVA et al., 2006), têm-se valores mais próximos com incubação a $18/23^\circ\text{C}$. Com a menor temperatura de incubação, 9 dos 17 solos ficaram próximos ou abaixo do resultado obtido por Gava et al. (2006) e Lara Cabezas et al. (2000), com quantidades mineralizadas variando entre 72 e 121 kg ha^{-1} . A 28°C , 5 solos (106 a 129 kg ha^{-1} de N) ficaram próximos dos resultados de N acumulado na parte aérea das plantas de milho, enquanto que a $23/28^\circ\text{C}$, todos os resultados obtidos foram maiores do que os determinados pelos autores. Yagi et al. (2009), com incubação a 35°C por 30 semanas, obtiveram valores de N_0 extrapolados para camada de 0 a 20 cm de um hectare de 240 a 959 kg ha^{-1} de N, com média de 479 kg ha^{-1} , e Mariano et al. (2013) determinaram valores médios de N_0 extrapolados para camada de 0-60 cm de 336 kg ha^{-1} de N, em 32 semanas de incubação a 35°C , sugerindo também, que estes resultados foram demasiadamente altos para as condições naturais dos solos e que não seriam suficientes para suprir as necessidades da cana-de-açúcar.

Vale ressaltar que os ensaios de mineralização do N seguindo o método de Stanford e Smith (1972) são realizados em condições de umidade e aeração ótimas para a microbiota do solo, podendo superestimar os resultados de campo (WIENHOLD, 2007), inclusive porque, em condições naturais, as plantas ocupam volume maior de solo e absorvem quantidade maior de N, aumentando assim a quantidade de N acumulado na parte aérea.

As quantidades de N_{mac}, assim como o N₀ (obtido a partir dos valores de N_{mac}), foram correlacionados com o N absorvido pelas plantas de milho (N_{abs}) obtido em casa de vegetação e com a produção de matéria seca da parte aérea das plantas de milho (MSPA) (Tabela 4), nas três temperaturas de incubação, e em todos os tempos de avaliação (Tabela 5). Esse comportamento pode ser explicado pela maior produção de N_{mac} e, conseqüentemente, maiores valores de N₀, nos solos com maiores teores de MO, que foram os que resultaram em maior produção de MSPA e N_{abs} (Tabela 4).

Tabela 4. Produção de matéria seca da parte aérea (MSPA), concentração de N e N absorvido pelas plantas de milho nos 17 solos, em experimento em casa de vegetação.

Solo ¹	MSPA	Concentração de N	N absorvido
	g/vaso	g kg ⁻¹	g/vaso
LV1	73,30	13,47	0,985
LV2	57,60	10,59	0,604
LV3	41,13	8,70	0,358
LV4	40,91	7,64	0,313
PVA1	52,65	8,05	0,422
LV5	29,81	6,72	0,200
PVA2	48,59	7,35	0,357
LV6	37,86	7,61	0,288
LV7	25,61	7,72	0,195
PVA3	49,82	9,29	0,463
PVA4	26,32	5,83	0,153
PVA5	31,75	6,03	0,192
LV8	29,05	5,64	0,164
LV9	11,01	6,04	0,067
PVA6	29,09	7,02	0,203
PVA7	28,42	6,13	0,174
PVA8	12,68	5,45	0,069

¹LV = Latossolo Vermelho; PVA = Argissolo Vermelho-Amarelo.

Os valores de r obtidos entre N_{mac} e N_{abs} (0,96** a 0,98**) foram maiores do que os obtidos entre N_{mac} e $MSPA$ (0,87** a 0,90**), nas três temperaturas de incubação (Tabela 5). Da mesma forma, os valores de r determinados entre N_0 e N_{abs} (0,87** a 0,92**) também foram maiores do que os determinados entre N_0 e $MSPA$ (0,82** a 0,87**) (Tabela 5). Deste modo, os resultados obtidos a partir dos valores reais (N_{mac}) foram maiores em relação aos que envolveram os valores obtidos a partir dos ajustes das curvas ao modelo exponencial de cinética de primeira ordem (N_0). Pode-se também pressupor que é possível diminuir o tempo de incubação das amostras, pois obteve-se correlação acima de 0,96** já no tempo 0, entre os valores de N_{abs} e N_{mac} . De acordo com Yagi et al. (2009), os valores de r obtidos entre N_{mac} e N_{abs} foram maiores no intervalo de 2 a 8 semanas de incubação aeróbia e, Gonçalves, Mendes e Sasaki (2001) sugerem que a determinação do N_0 em período de 8 semanas de incubação geram resultados satisfatórios, ao invés de 30 semanas de incubação, como está descrito no método original (STANFORD; SMITH, 1972). Deste resultado há implicações práticas como maior facilidade para obtenção dos dados, simplicidade e economia de tempo e de reagentes para as avaliações (lixiviações de N, aplicações de solução nutritiva sem N e ajustes de umidade nos tubos de percolação) e análises químicas de N inorgânico (YAGI et al., 2009).

No presente trabalho, os valores de N_{abs} , em $kg\ ha^{-1}$ foram de 30 a 438 $kg\ ha^{-1}$, com média de 136 $kg\ ha^{-1}$ de N. Considerando que o tempo de crescimento das plantas foi de 38 dias e, somando os 10 dias de incubação inicial com carbonatos e adubos, os resultados de N_{mac} em 49 dias de incubação foram mais próximos aos obtidos com incubação a 18/23°C.

Tabela 5. Coeficientes de correlação (r) entre N absorvido pelas plantas de milho (Nabs) e matéria seca da parte aérea (MSPA) das plantas de milho, em experimento em casa de vegetação, e nitrogênio potencialmente mineralizável (N₀) e N mineralizado acumulado (Nmac) nos tempos de avaliação, para cada experimento com variações na temperatura.

Variável ^I	N ₀ ^{II}	Nmac ao longo do tempo (dia)									
		0	3	7	14	21	28	49	70	91	112
18/23°C ^{III}											
Nabs	0,92**	0,96**	0,97**	0,98**	0,98**	0,98**	0,98**	0,98**	0,97**	0,97**	0,98**
MSPA	0,86**	0,87**	0,87**	0,88**	0,88**	0,88**	0,88**	0,88**	0,88**	0,88**	0,88**
23/28°C ^{III}											
Nabs	0,87**	0,97**	0,98**	0,98**	0,98**	0,98**	0,98**	0,97**	0,97**	0,97**	0,97**
MSPA	0,82**	0,87**	0,88**	0,88**	0,88**	0,88**	0,88**	0,88**	0,89**	0,89**	0,89**
28°C ^{III}											
Nabs	0,91**	0,96**	0,97**	0,98**	0,98**	0,98**	0,98**	0,98**	0,97**	0,97**	0,98**
MSPA	0,87**	0,87**	0,89**	0,89**	0,89**	0,89**	0,89**	0,90**	0,90**	0,90**	0,90**

^INabs: nitrogênio absorvido pelas plantas de milho; MSPA: produção de matéria seca da parte aérea das plantas de milho; ^{II}N₀: nitrogênio potencialmente mineralizável; ^{III} Temperatura de condução dos experimentos; **Significativo a 1% de probabilidade.

4.2 Frações do N orgânico e N-ISNT

Os solos com maiores teores de MO foram os que resultaram nas maiores quantidades das formas de N hidrolisável, N-não identificado (N-NI), N-insolúvel em ácido (N-IA) e N-ISNT (Tabela 6). A quantidade de N-TH em relação ao N total do solo (N-TH + N-IA) variou de 55 a 80%, com média de 71%. Esses resultados estão de acordo com os citados por Bremner (1965) que obteve valores entre 60 e 80% e são próximos aos obtidos por Reddy et al. (2003), 57 e 76%. O método de hidrólise ácida de solo originou-se da hidrólise realizada em proteínas e, segundo Bremner (1965), quando ele foi proposto acreditava-se que a maior parte dos compostos orgânicos dos solos fossem proteicos, o que se confirma frente aos resultados obtidos e, independentemente da região de ocorrência do solo, o intervalo permanece aproximadamente constante. Ainda, a relação N-IA/N-TH nas 17 amostras de solos foi de 0,2 a 0,8 (média de 0,4), ou seja, após a hidrólise ácida das amostras de solo, restou grande quantidade de N que não foi hidrolisada, mesmo considerando a aplicação de ácido forte (HCl 6 mol L⁻¹) e manutenção das amostras em aquecimento por 12 h. O N-IA corresponde à fração do N orgânico resistente a hidrólise ácida e de natureza não proteica (SCHNITZER; HINDLE, 1981)

que é, normalmente, ignorada quando se faz a análise das frações de N em hidrolisados de solos, sendo obtida pela diferença entre N-total do solo e N-TH.

As frações de N do solo, em relação ao N-TH, foram distribuídas da seguinte forma: 14-38% na forma de N-NH₄⁺ hidrolisável; 36-52% na forma de N-(NH₄⁺ + AAç); 10-32% na forma de N-aminoaçúcares; 26-46% na forma de N-aminoácidos; e 3-28% na forma de N-não identificado (Tabela 7). Em ordem decrescente de teores médios, obteve-se a sequência: N-(NH₄⁺ + AAç) (44%) > N-aminoácidos (37%) > N-NH₄⁺ hidrolisável (26%) > N-aminoaçúcares (19%) > N-não identificado (18%). Entre 20 e 40% e 33 a 42% do N-TH do solo estavam na fração N-aminoácidos, segundo Bremner (1965) e Shulten e Schnitzer (1998), respectivamente. Reddy et al. (2003) também determinaram proporção considerável, dentro do N-TH, nas frações N-aminoácidos (22 a 26%) e N-NH₄⁺ hidrolisável (19 a 24%), em amostras de solo de experimento de longa duração com aplicação de fertilizantes NPK. Portanto, os resultados obtidos com os 17 solos estão próximos dos intervalos citados por outros autores.

Tabela 6. Concentração das formas de N hidrolisável, N-não identificado (N-NI), N-insolúvel em ácido (N-IA) e N-ISNT nas 17 amostras de solos.

Solo ^I	Formas de N hidrolisável ^{II}				Total	N-NI ^{III}	N-IA ^{IV}	N-ISNT ^V
	N-NH ₄ ⁺	NH ₄ ⁺ + AAç	AAç	AA				
	----- mg kg ⁻¹ de N -----							
LV1	368	940	572	688	2.068	441	1.099	616
LV2	261	704	442	499	1.578	376	909	407
LV3	226	727	501	412	1.585	446	1.303	362
LV4	194	297	102	251	704	156	224	163
PVA1	164	317	153	319	878	243	228	198
LV5	219	346	127	283	793	164	438	154
PVA2	241	360	119	350	875	165	268	160
LV6	198	308	111	307	839	224	230	151
LV7	168	302	134	286	714	126	279	163
PVA3	255	366	111	331	863	166	241	216
PVA4	183	307	124	273	690	110	168	142
PVA5	174	230	57	238	571	102	179	95
LV8	151	239	88	186	485	60	228	115
LV9	140	222	83	176	463	65	265	99
PVA6	139	221	82	184	496	91	140	116
PVA7	110	152	42	127	294	52	147	77
PVA8	60	125	65	115	248	8	108	54

^I LV = Latossolo Vermelho; PVA = Argissolo Vermelho-Amarelo; ^{II} AAç, aminoaçúcares = (N-NH₄⁺ + AAç) - N-NH₄⁺ hidrolisável; AA, aminoácidos; ^{III} NI: (N-não identificado) = N-total hidrolisável - (N-NH₄⁺ hidrolisável + N-aminoácidos + N-aminoaçúcares); ^{IV} IA: insolúvel em ácido; ^V ISNT: Illinois Soil Nitrogen Test.

A proporção média da recuperação de N-NH₄⁺ hidrolisável está próxima dos intervalos citados por Stevenson (1982) e Shulten e Schnitzer (1998), de 20 a 25% e de 18 a 32%, respectivamente, na camada arável. De acordo com os autores, o NH₄⁺ pode ser derivado de aminoácidos (pequena parte), como asparagina e glutamina; pode ser NH₄⁺ adsorvido; e parte é oriunda da destruição parcial de N-aminoaçúcares e, também, da quebra de aminoácidos durante a hidrólise ácida (o triptofano é destruído completamente).

Tabela 7. Porcentagem das frações de N do solo em relação ao N-total hidrolisável.

Solo ^I	Formas de N hidrolisável ^{II}				
	N-NH ₄ ⁺	NH ₄ ⁺ + AAç	AAç	AA	N-NI
	----- % -----				
LV1	18	45	28	33	21
LV2	17	45	28	32	24
LV3	14	46	32	26	28
LV4	28	42	15	36	22
PVA1	19	36	17	36	28
LV5	28	44	16	36	21
PVA2	28	41	14	40	19
LV6	24	37	13	37	27
LV7	23	42	19	40	18
PVA3	30	42	13	38	19
PVA4	27	44	18	40	16
PVA5	30	40	10	42	18
LV8	31	49	18	38	12
LV9	30	48	18	38	14
PVA6	28	45	17	37	18
PVA7	38	52	14	43	5
PVA8	24	50	26	46	3

^I LV: Latossolo Vermelho; PVA: Argissolo Vermelho-Amarelo; ^{II} AAç, aminoaçúcares; AA, aminoácidos; NI: (N-não identificado) = N-total hidrolisável - (N-NH₄⁺ hidrolisável + N-aminoácidos + N-aminoaçúcares);

Os teores de N-ISNT variaram de 54 a 616 mg kg⁻¹ de N, nos solos PV8 e LV1, respectivamente (Tabela 6). Nos solos com teores maiores de MO também, neste caso, foram obtidos os maiores teores de N-ISNT. Estes resultados podem ser explicados pelo fato de que este método foi desenvolvido para estimar a quantidade de N-(NH₄⁺ + AAç) no solo, de forma rápida e simples, em relação ao fracionamento; e nele são utilizados solução de mesma concentração (NaOH 2 mol L⁻¹) e mesmo tempo de difusão que os empregados no fracionamento. Desta maneira, extrai as

mesmas formas de N obtidas na avaliação de hidrolisados neutralizados de solos. O N-ISNT permitiu classificar eficientemente solos responsivos ($< 225 \text{ mg kg}^{-1}$ de N) e não-responsivos ($> 235 \text{ mg kg}^{-1}$ de N) a aplicação de fertilizantes nitrogenados para produção de milho, em 25 áreas do Estado de Illinois, EUA (KHAN; MULVANEY; HOEFT, 2001). Considerando esses valores, somente os solos LV1, LV2 e LV3 seriam não-responsivos à aplicação de N, porém, os solos testados por Khan, Mulvaney e Hoeft (2001) e Mulvaney, Khan e Ellsworth (2006) são de clima temperado, e esperam-se valores críticos menores para clima tropical, devido a atividade microbiana mais intensa. De fato, Otto et al. (2013) avaliaram a eficiência do uso do N-ISNT em experimentos com cana-de-açúcar, no Brasil, e separaram o N-ISNT em três classes de resposta a adubação nitrogenada (camada de 0-30 cm): 57 mg kg^{-1} de N; moderadamente responsivas, 77 e 85 mg kg^{-1} de N; e não-responsivas, 175 e 209 mg kg^{-1} de N. Considerando as diferenças nos valores obtidos por Khan, Mulvaney e Hoeft (2001) e Otto et al. (2013), fica evidente que o fator clima não pode ser negligenciado, havendo necessidade de calibrar o método para utilização regional em função da cultura.

A variação nas frações de N do solo obtida no presente trabalho foi semelhante à obtida por Otto et al. (2013), excluindo-se os três primeiros Latossolos (LV1, LV2 e LV3), por apresentarem teores altos de MO (75, 63 e 50 g dm^{-3}) e de argila (LV3 muito argiloso), muito acima da média obtida para os demais solos (9 a 40 g dm^{-3} , PVA8 e LV4, respectivamente), e também acima do intervalo avaliado pelos autores.

Todas as frações de N do solo foram altamente correlacionadas com o N absorvido pelas plantas de milho (dados obtidos no experimento em casa de vegetação), com coeficientes de correlação superiores a 0,80**, chegando a 0,93** (Tabela 8). Os maiores coeficientes foram obtidos com a fração aminoácidos e com o N-ISNT (0,93**). A fração N-insolúvel em ácido foi a que apresentou o menor coeficiente de correlação (0,65**), porém foi significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 8. Coeficientes de correlação (R) entre N absorvido (N_{abs}) pelas plantas de milho, e o N potencialmente mineralizável (N_0) em três temperaturas de incubação dos solos, formas de N orgânico (N hidrolisável, N-não identificado, N-insolúvel em ácido) e N-ISNT.

Fator	Formas de N hidrolisável ^I					N-NI ^{II}	N-IA ^{III}	ISNT ^{IV}
	N-NH ₄ ⁺	NH ₄ ⁺ + AAç	AAç	AA	Total			
N_{abs}	0,88**	0,87**	0,80**	0,93**	0,89**	0,81**	0,65**	0,93**
N_0 18/23°C	0,89**	0,92**	0,86**	0,95**	0,92**	0,83**	0,72**	0,96**
N_0 23/28°C	0,90**	0,94**	0,89**	0,97**	0,95**	0,89**	0,78**	0,97**
N_0 28°C	0,89**	0,92**	0,86**	0,96**	0,93**	0,86**	0,73**	0,96**

^IAAç, aminoaçúcares; AA, aminoácidos; ^{II}NI: N-não identificado; ^{III}IA: insolúvel em ácido; ^{IV}ISNT: Illinois Soil Nitrogen Test.

Correlações altas e significativas também foram observadas entre o N_0 nas três temperaturas de incubação e todas as frações do N-orgânico do solo. O coeficiente de correlação foi superior a 0,86**, chegando a 0,97** com a fração N-aminoácidos e com o N-ISNT. Reddy et al. (2003) também obtiveram correlação significativa entre o N mineralizado e todas as frações do N no hidrolisado de solo (N-total hidrolisado, N-aminoácidos, N-hexosamina, N-NH₄⁺ hidrolisado e N-não identificado). Todas as correlações foram maiores que 0,87**, mas com maiores valores para a fração N-aminoácidos, em experimento de incubação aeróbia por duas semanas (0,96**) e de incubação anaeróbia por 7 dias (0,99**), ambos a 30°C. Os autores obtiveram correlação também entre as frações do N-TH do solo e a quantidade de N absorvida por plantas de trigo e milho em sucessão, da mesma forma como foi observado neste experimento. Outros trabalhos também definem a fração N-aminoaçúcares como sendo a que melhor representa o N disponível do solo (BREMNER, 1965; STEVENSON, 1982; GIANELLO; BREMNER, 1986; MULVANEY et al., 2001; KHAN; MULVANEY; HOEFT, 2001; SPARGO et al., 2009). Lu et al. (2009) relataram que a fração do N orgânico que melhor correlacionou com o N potencialmente mineralizável obtido em experimento de incubação aeróbia e anaeróbia foi o N-NH₄⁺ hidrolisável e, de acordo com Mohapatra (1988), espera-se que apenas as formas mais lábeis do N orgânico dos solos sejam correlacionadas com o N absorvido, pois são as formas de liberação mais imediata e importantes fontes de N mineral, que resultam em aumentos no N absorvido e na produção da cultura.

A incubação a 23/28 °C por 10/14 horas resultou nas melhores correlações entre N_0 e todas as formas de N hidrolisável. Nesta temperatura de incubação foram obtidos os maiores valores de N_0 .

4.3 Determinação da taxa de mineralização de N de esterco bovino em campo e em laboratório

O comportamento da mineralização *in situ* foi muito semelhante nos tratamentos sem a adição de esterco e com a aplicação de 20 t ha⁻¹ (Figura 10). Houve aumento no N mineralizado até os 28 dias de incubação, decréscimo posterior até os 49-70 dias e, a seguir, estabilização (Figura 10). A primeira chuva ocorreu 11 dias após a instalação do experimento, 147 mm em 4 dias (Figura 2). Esta quantidade de chuva refletiu no aumento do N mineralizado no intervalo entre 14 e 28 dias. Nas avaliações *in situ* houve maior mineralização inicial, estimulada pela aeração resultante da aração; gradagem e incorporação do esterco, o que induz aumento da atividade microbiana, e da degradação das frações orgânicas de fácil mineralização (RHODEN et al., 2006; YAGI et al., 2009), tanto do N do solo como do N do esterco bovino. O efeito se estendeu até os 28 dias porque a umidade do solo foi limitante nas avaliações iniciais.

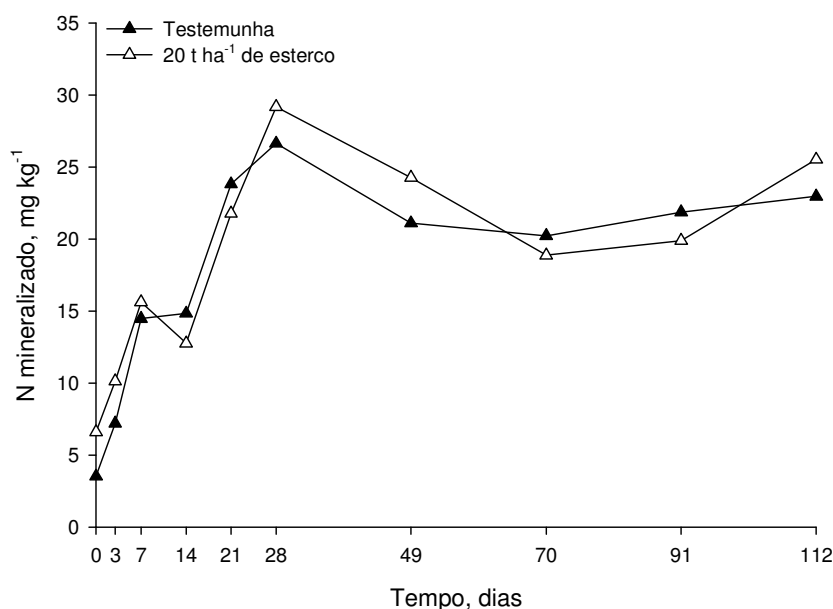


Figura 10. N mineralizado do solo ($N-NH_4^+$ + $N-NO_3^-$) + resina ($N-NO_3^-$), nos tratamentos com e sem 20 t ha⁻¹ de esterco, durante 112 dias de incubação em campo.

Nas primeiras avaliações (3 e 7 dias) não havia N_{min} na resina por causa da baixa umidade do solo, causada pelo período de estiagem (Figura 11). Nos tempos de 14 e 21 dias foram determinadas baixas concentrações de N na resina. Após 28 dias de incubação, o N-NO₃⁻ na resina aumentou para cerca de 23% e 34% do N mineralizado nos tratamentos testemunha e 20 t ha⁻¹ de esterco, respectivamente. Em ambos tratamentos, ao fim do período de 112 dias de avaliação 55% do N mineralizado estava adsorvido à resina (Figura 11). No tratamento-testemunha houve aumento nos teores de N-NO₃⁻ na resina até os 28 dias, com estabilização e posterior aumento até 112 dias. Na dose de 20 t ha⁻¹ de esterco, após os 28 dias, houve perdas de N na resina aos 49 e 91 dias de incubação (Figura 11), subestimando a quantidade de N mineralizado em campo quando comparado com o método de laboratório. Diminuição dos valores de N mineral na resina trocadora de íons também foi determinado por Eghball (2000) e Hanselman, Graetz e Obreza (2004), mas em tempo de incubação diferente, entre 45 e 180 dias de incubação *in situ*. Os autores justificaram que a precisão deste método é questionável, pois constataram que os teores obtidos eram subestimados quando comparados com a incubação em laboratório e, de acordo com Brye et al. (2002), a distribuição desuniforme de adubos e o caminho preferencial do íon N-NO₃⁻ pelas paredes dos tubos é uma justificativa das limitações no uso do método da resina trocadora de íons. Por outro lado, com o tempo de incubação, Hagedorn et al. (1997) observaram aumento nos teores de N-NO₃⁻ na resina trocadora de ânions, o que permitiu a estimativa da suscetibilidade à lixiviação do N mineral a partir de adubações orgânicas.

O N mineralizado em campo (Figura 10) foi menor do que o determinado em no experimento de incubação em laboratório (Figura 13). As determinações feitas *in situ* resultaram em 23 e 25,5 mg kg⁻¹ de N, em 112 dias de avaliação, para o tratamento-testemunha e com aplicação de 20 t ha⁻¹ de esterco bovino, respectivamente e, para a incubação em laboratório, foram determinados 81,4 e 98,3 mg kg⁻¹ de N, no mesmo período de avaliação, considerando a mesma sequência de tratamentos. Essas diferenças são atribuídas, principalmente, à flutuação de temperatura e de umidade nos experimentos de campo (HANSELMAN; GRAETZ; OBREZA, 2004; WIENHOLD, 2007). Adams e Attiwill (1986) compararam a

mineralização da MO do solo pelos métodos de laboratório e de campo e verificaram que as taxas de mineralização em campo foram menores que às do laboratório. Os autores relataram que a temperatura elevada e constante do método de laboratório foi o principal fator responsável pela diferença. Considerando que a temperatura de incubação no laboratório foi de 28°C por 14 horas, seguido de 23°C por 10 horas, e a média obtida em campo foi de 24,9°C, atribui-se a diferença na mineralização entre laboratório e campo, principalmente, à umidade do solo, constante em laboratório, e sujeita a ciclos de secagem/reumedecimento no campo.

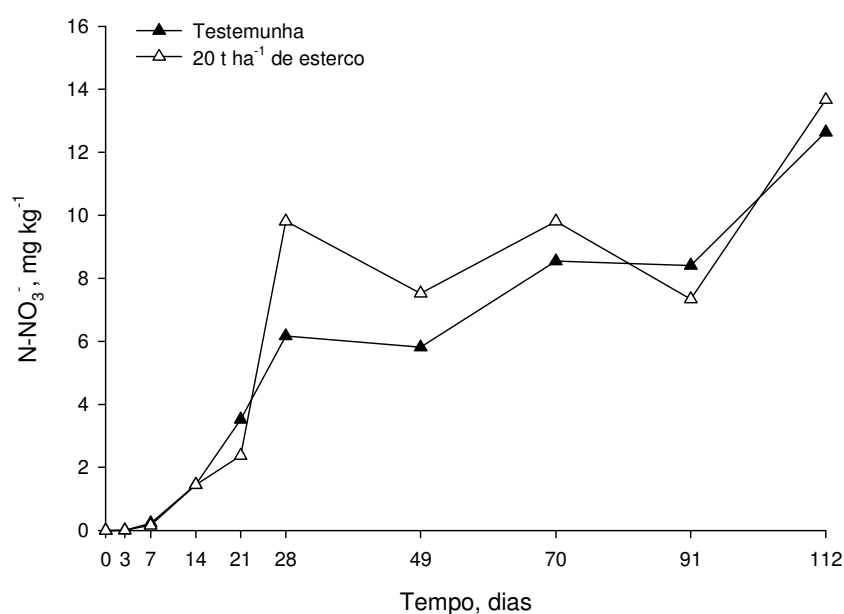


Figura 11. N-NO₃⁻ na resina trocadora de íons nos tratamentos com e sem 20 t ha⁻¹ de esterco, durante 112 dias de incubação em campo.

A fração de mineralização do esterco bovino, determinada *in situ*, foi menor do que a obtida com incubação no laboratório. Apenas 4,2% do N aplicado na forma de esterco bovino foi mineralizado em 112 dias de incubação *in situ*, enquanto que, em laboratório, foi 18,9%. Considerando a concentração de N no esterco (11 g kg⁻¹) e a aplicação de 20 t ha⁻¹ de esterco, em valores absolutos, foram aplicados 220 kg ha⁻¹ de N, dos quais, em campo, cerca de 9 kg ha⁻¹ foram mineralizados; no laboratório, o N mineralizado foi de aproximadamente 42 kg ha⁻¹, no mesmo intervalo de tempo. A fração de mineralização determinada em laboratório ficou próxima da determinada por Eghball (2000), em três anos de aplicação de esterco bovino curtido

em campo, ou seja, 20%, utilizando o método da resina trocadora de íons, em 120 dias de incubação. Segundo Van Kessel e Reeves (2002), no primeiro ano de aplicação do esterco bovino, a expectativa de mineralização do N orgânico é de 35%, mas os resultados podem variar de 0 a 50%. Parte das variações é atribuída ao tipo de solo e às condições climáticas, mas também ocorrem variações na composição do esterco bovino aplicado. Em estudo abrangente, os autores incubaram 107 amostras de esterco com solo, durante 57 dias, e determinaram mineralização líquida entre 29 e 54% do N, com valor médio de 12,8% (VAN KESSEL; REEVES, 2002).

Apesar de ter havido diminuição dos valores de Nmin ao longo do tempo de incubação *in situ*, os resultados ajustaram-se ao modelo exponencial de cinética de primeira ordem (Figura 12), assim como ocorreu com os resultados de Nmac obtidos em laboratório (Figura 13). Com isto, foi possível determinar os valores de N potencialmente mineralizável (N_0) e a constante de mineralização (k), em ambas as situações.

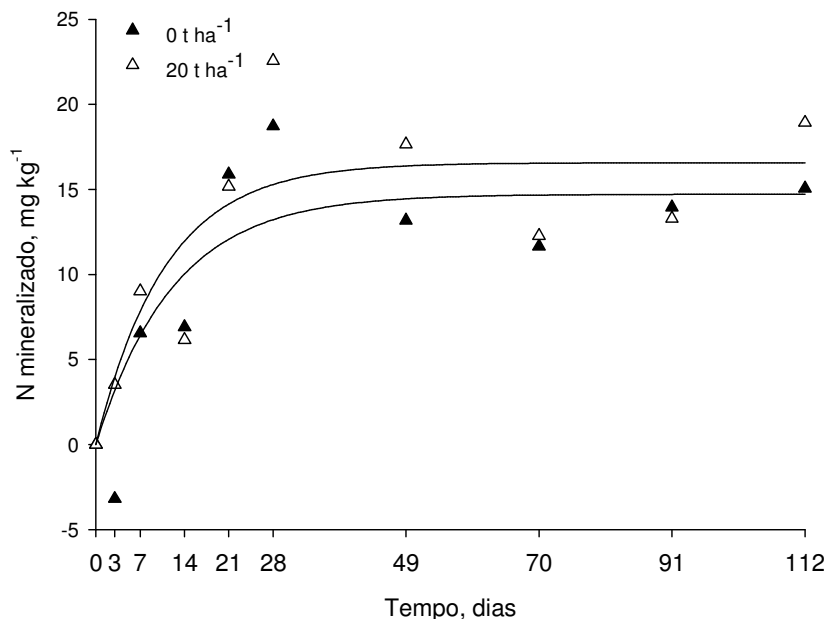


Figura 12. Nitrogênio mineralizado determinado *in situ*, nos tratamentos 0 e 20 t ha⁻¹ de esterco bovino, com ajuste ao modelo exponencial de cinética de primeira ordem.

Os valores de N_0 obtidos em incubação em campo foram 14,7 e 16,6 mg kg⁻¹ de N, nos tratamentos testemunha e com a aplicação de 20 t ha⁻¹ de esterco bovino,

com coeficientes de determinação de 0,76** e 0,72**, e k de 0,0817 e 0,0914 dia⁻¹, respectivamente. Em laboratório os resultados foram 86,3 e 171,9 mg kg⁻¹ de N, com coeficientes de determinação de 0,98** e 0,96**, e valores de k de 0,0198 e 0,0070 dia⁻¹, respectivamente nos tratamentos 0 e 20 t ha⁻¹ de esterco. Estes resultados sugerem a mineralização potencial de 36 e 41 kg ha⁻¹ de N no experimento de incubação em campo, e em 212 e 423 kg ha⁻¹ de N, em laboratório, nos tratamentos testemunha e 20 t ha⁻¹ de esterco, respectivamente. Deste modo, aparentemente, os resultados de N₀ estão subestimados e superestimados, para os métodos de campo e laboratório, respectivamente, em relação ao N absorvido pelas plantas de milho em experimento de campo (Figura 15), ou ainda, em relação aos resultados de N_{abs} por plantas de milho, em experimentos utilizando ¹⁵N marcado, 115 kg ha⁻¹ (LARA CABEZAS et al., 2000), ou 114 kg ha⁻¹ (GAVA et al., 2006).

Em valores transformados para kg ha⁻¹ de N, ao fim do período de incubação (112 dias), as quantidades de N_{min} com incubação em campo foram de 72 e 81 kg ha⁻¹ de N (tratamento-testemunha e 20 t ha⁻¹ de esterco, respectivamente); utilizando os valores de N_{mac} resultante da incubação em laboratório foram 240 e 283 kg ha⁻¹ de N, respectivamente. Mesmo utilizando os valores reais de N mineralizado, os valores ficaram distantes dos obtidos no experimento de campo, absorvidos pelas plantas de milho (média de 137 kg ha⁻¹ de N).

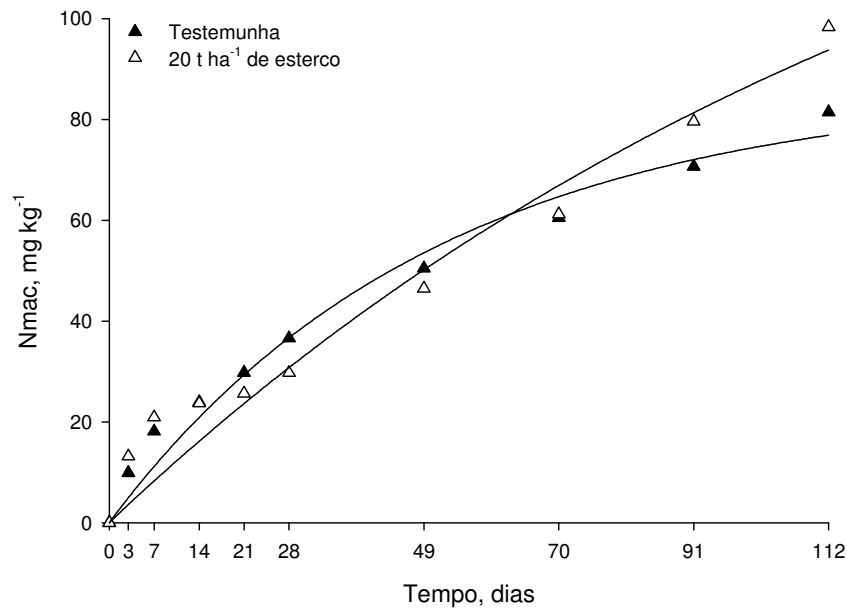


Figura 13. N mineralizado acumulado (Nmac) em experimento em laboratório, com ajuste ao modelo exponencial de cinética de primeira ordem, com e sem a aplicação de 20 t ha⁻¹ de esterco bovino.

Como já era esperado, e assim como nos trabalhos de Von Pinho et al. (2009) e Borin, Lana e Pereira (2010), a produção de matéria seca do milho aumentou com o tempo, de forma linear, independente da aplicação ou não de esterco bovino (Figura 14). Em média, o aumento foi de 0,2 g planta⁻¹ 14 dias após a semeadura, a 300 g planta⁻¹, aos 112 dias. Em valores transformados em kg ha⁻¹ de MSPA foram obtidos 16.800 e 16.200 kg ha⁻¹, nos tratamentos testemunha e com aplicação de 20 t ha⁻¹ de esterco, após 112 dias. As quantidades de MSPA produzidas foram, portanto, semelhantes entre os tratamentos com e sem esterco, mas aos 112 dias, os valores foram maiores no tratamento-testemunha. O mesmo ocorreu com o N absorvido pelas plantas de milho (Nabs) aos 112 dias (Figura 15) e, em valores transformados, foram obtidos 141 e 133 kg ha⁻¹ de N, no tratamento-testemunha e com aplicação de 20 t ha⁻¹ de esterco, respectivamente. Resultados semelhantes foram obtidos por Menezes e Salcedo (2007), em experimento utilizando esterco bovino *in situ*. Os autores verificaram que não houve diferença entre as quantidades de MSPA e Nabs nos tratamentos com e sem a aplicação de 20 t ha⁻¹ de esterco.

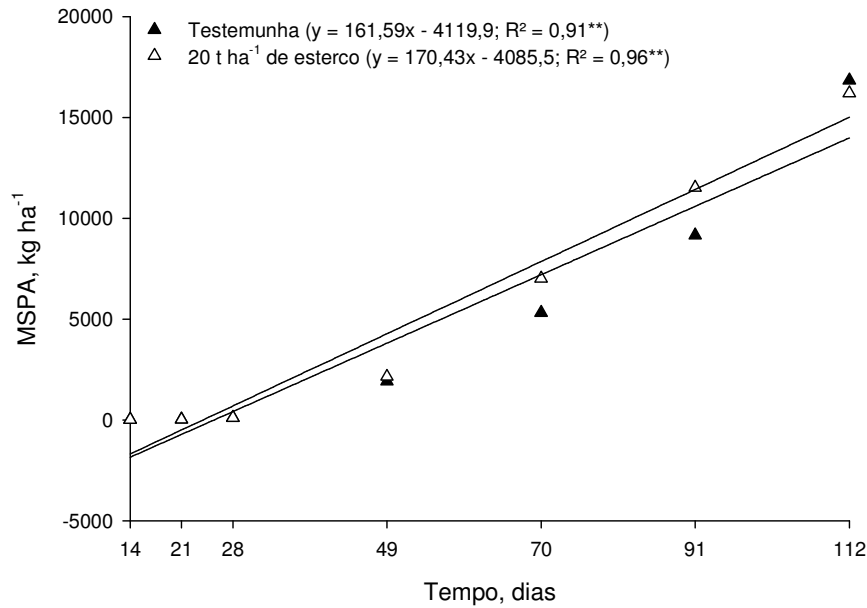


Figura 14. Produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) das plantas de milho nos tratamentos com e sem aplicação de 20 t ha⁻¹ de esterco.

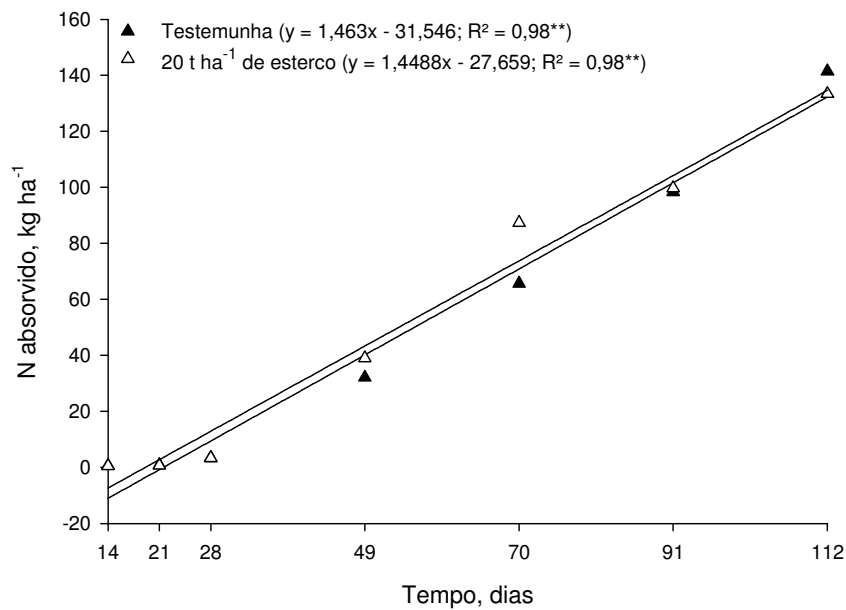


Figura 15. N absorvido pela parte aérea das plantas de milho (Nabs) nos tratamentos com e sem aplicação de 20 t ha⁻¹ de esterco.

Apesar dos resultados semelhantes de produção de MSPA e Nabs no tratamento-testemunha e na dose 20 t ha⁻¹ de esterco, estes não refletiram em valores próximos na produção de milho. Houve aumento linear na produção de milho

com a aplicação das doses de esterco bovino (Figura 16). No tratamento-testemunha, sem aplicação de esterco bovino, a produção média de grãos de milho foi de $7,5 \text{ t ha}^{-1}$, e nas doses 20 e 40 t ha^{-1} de esterco foi de $9,2 \text{ t ha}^{-1}$, e $10,9 \text{ t ha}^{-1}$ de grãos de milho, respectivamente.

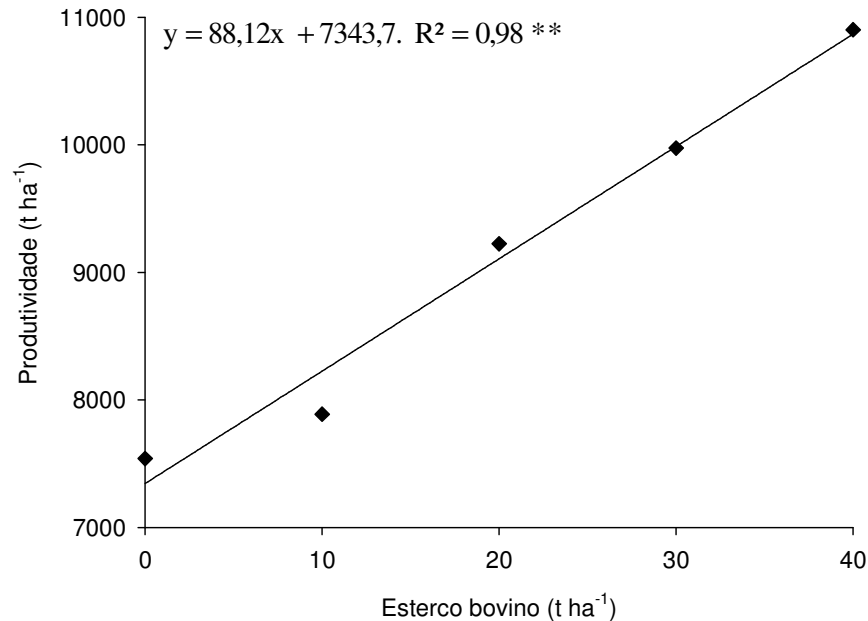


Figura 16. Produtividade de milho em função das doses de esterco bovino aplicado.

Não foram obtidas correlações significativas (R) entre o N mineralizado nos experimentos de campo com o Nabs pelas plantas de milho em experimento em campo (Figura 17). Uma justificativa para os resultados em campo é pelo aumento linear no Nabs, comportamento que não foi observado com os resultados de Nmin obtidos em campo utilizando o método da resina trocadora de íons. Apesar dos aspectos teóricos favoráveis ao método da resina, decorrentes da medida em condições reais de temperatura e umidade, há também aspectos desfavoráveis. O primeiro é que o sistema radicular das plantas explora volume de solo maior do que os 20 cm superficiais, onde os tubos são colocados, mas neste aspecto o problema também existe nas medidas feitas em laboratório. Outro aspecto é que, quando se faz a incorporação do resíduo ao solo, ela não é uniforme e, com a inserção dos tubos ao acaso, não há garantia que no volume de solo do tubo a quantidade do resíduo seja, de fato, equivalente à dose aplicada (EGHBALL, 2000; BRYE et al., 2002). Neste aspecto, a precisão dos métodos de laboratório é maior, porque as

quantidades de resíduos são pesadas e misturadas a cada amostra que é submetida à incubação. Por isso, com o método de incubação em laboratório foi obtido alto coeficiente de correlação entre o Nabs pelas plantas de milho e o N mineralizado acumulado (0,94**) (Figura 18). Trabalhando em condições controladas, a correlação entre o Nabs e o N mineralizado normalmente ocorre, tanto quando a medida é feita em condições aeróbias (YAGI et al., 2009), como quando as condições de incubação são anaeróbias (RHODEN et al., 2006; YAGI et al., 2009).

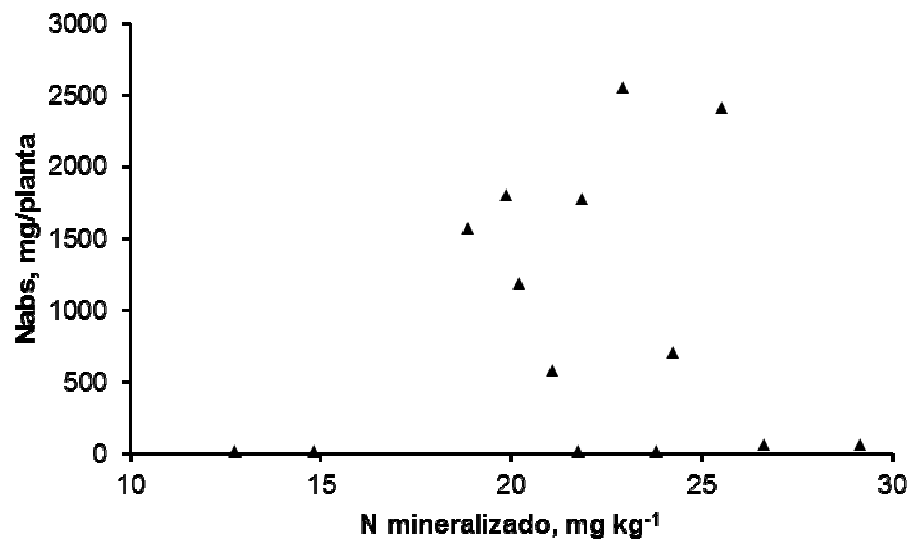


Figura 17. Correlação linear entre N absorvido por plantas de milho e N mineralizado em experimento em campo, durante 112 dias.

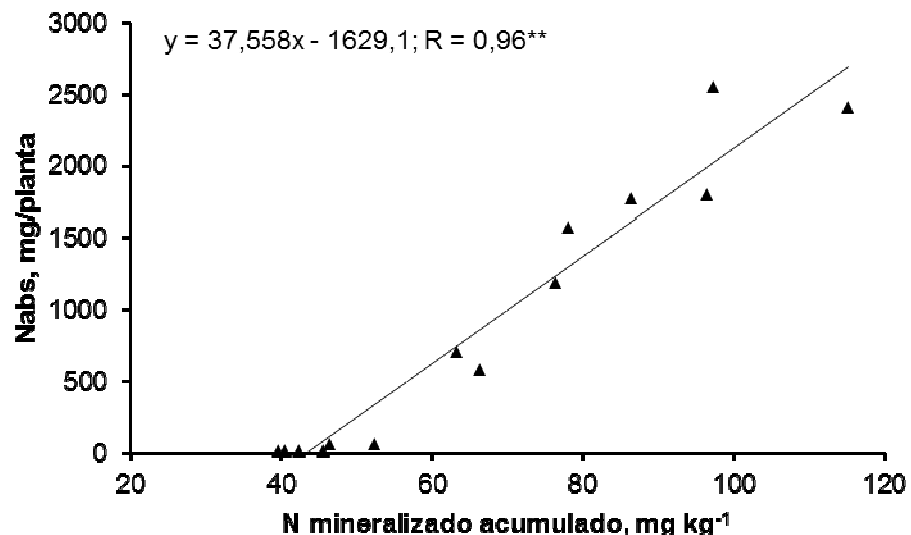


Figura 18. Correlação linear entre N absorvido por plantas de milho e N mineralizado acumulado em experimento em laboratório, durante 112 dias.

5 CONCLUSÕES

- Incubação das amostras de solo a 28°C, 23/28°C por 10/14 horas ou 18/23°C por 10/14 horas não afetou as correlações entre as quantidades de N mineralizado acumulado e N absorvido pelas plantas de milho.
- O N mineralizado acumulado obtido por incubação das amostras de solo a 18/23°C, em laboratório, foi o que mais se aproximou, em valores absolutos, do N absorvido por plantas de milho em casa de vegetação e, por isso, pode ser considerado o melhor índice de disponibilidade de N.
- A fração N-aminoácidos e o índice N-ISNT foram os que melhor correlacionaram com o Nabs e o Nmac, e o N-ISNT pode ser adaptado para uso em rotina.
- A determinação da taxa de mineralização de N em ensaio de incubação em laboratório é mais indicada do que o método em campo, com resina trocadora de ânions, em solo com ou sem aplicação de esterco bovino.
- A fração de mineralização do esterco bovino obtida em incubação em campo foi 4,2% e em laboratório foi 18,9%, em 112 dias.

6 LITERATURA CITADA

15N ANALYSIS SERVICE. **The Illinois Soil Nitrogen Test for amino sugar-N: Estimation of potentially mineralizable soil N and ¹⁵N**, 2004. Disponível em: <<http://illinoissoilntest.nres.uiuc.edu/~files/papers/TN02-01g.pdf>>. Acesso em: 30 out. 2012.

ABRIL, A.; CAUCAS, V.; BUCHER, E. H. Reliability of the *in situ* incubation methods used to assess nitrogen mineralization: a microbiological perspective. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 17, p. 125–130, 2001.

ADAMS, M. A.; ATTIWILL, P. M. Nutrient cycling and nitrogen mineralization in eucalypt forests of south-eastern Australia. II. Indices of nitrogen mineralization. **Plant and Soil**, The Hague, v. 92, p. 341-362. 1986.

AGEHARA, S.; WARNCKE, D. D. Soil moisture and temperature effects on nitrogen release from organic nitrogen sources. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 69, p. 1844-1855, 2005.

ALFAIA, S. Caracterização e distribuição das formas do nitrogênio orgânico em três solos da Amazônia Central. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 36, p. 135-140, 2006.

BARKER, D. W.; SAWYER, J. E.; AL-KAISI, M. M. Assessment of the amino sugar-nitrogen test on Iowa soils: I. Evaluation of soil sampling and corn management practices. **Agronomy Journal**, Madison, v. 98, p. 1345-1351, 2006.

BENDI, D. K.; RICHTER, J. A critical review of some approaches to modeling nitrogen mineralization. **Biology of Fertility Soils**, Berlin, v. 35, p. 168–183. 2002.

BORIN, A. L. D. C.; LANA, R. M. Q.; PEREIRA, H. S. Absorção, acúmulo e exportação de macronutrientes no milho doce cultivado em condições de campo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, p. 1591-1597, 2010.

BRASIL. Instrução Normativa SDA nº 28, de 27 de julho de 2007. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 31 jul. 2007. Seção 1, p.11, 2007.

BREMNER, J.M. Organic forms of nitrogen. In: BLACK, C.A. et al. (Eds.) **Methods of soil analysis**. Part 2. Madison: Soil Science Society of America, 1965. p. 1238–1255.

BRYE, K. R.; GOWER, S.T.; NORMAN, J.M.; BUNDY, L.G. Carbon budgets for a prairie and agroecosystems: Effects of land use and interannual variability. **Ecological Applications**, Tempe, v. 12, p. 962–979, 2002.

CAMARGO, F. A. O.; GIANELLO, C.; TEDESCO, M. J.; RIBOLD, J.; MEURER, E. J.; BISSANI, C. A. Empirical models to predict soil nitrogen mineralization. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, p. 393-399, 2002.

CAMARGO, F. A. O.; GIANELLO, C.; VIDOR, C. Potencial de mineralização do nitrogênio em solos do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 21, p. 575-579, 1997a.

CAMARGO, F. A. O.; GIANELLO, C.; VIDOR, C. Erros potenciais na estimativa da mineralização do nitrogênio do solo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, p.151-152, 1997b.

CAMARGO, O. A.; MONIZ, A. C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. A. S. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agronômico de Campinas**. Campinas: Instituto Agronômico, 2009. 77p. (Boletim técnico, 106)

CAMPBELL, C. A.; MYERS, R. J. K.; WEIER, K. L. Potentially mineralizable nitrogen, decomposition rates and their relationship to temperature for five Queensland soils. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 19, p. 323-332, 1981.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P. C. O. Determinação de nitrogênio inorgânico em solo pelo método de destilação a vapor. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. (Eds.) **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. p. 270-276.

CARMO, C. A. F. S.; ARAÚJO, W. S.; BERNARDI, A. C. C.; SALDANHA, M. F. C. **Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na Embrapa Solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2000. 41p. (Circular técnica, 6)

CARNEIRO, W. J. O.; SILVA, C. A.; MUNIZ, J. A.; SAVIAN, T. V. Mineralização de nitrogênio em Latossolos adubados com resíduos orgânicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 37, p. 715-725, 2013.

CETESB. **Aplicações de lodos de sistema de tratamento biológico em áreas agrícolas**. Critérios para projetos e operações. São Paulo: Cetesb, 1999. 32p. (Norma P4.230)

DISTEFANO, J. F.; GHOLZ, H. L. A proposed use of ion exchange resins to measure nitrogen mineralization and nitrification in intact soil cores. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 17, p. 989-998, 1986.

DOU, H.; ALVA, A. K.; KHAKURAL, B. R. Nitrogen mineralization from citrus trees residues under different production conditions. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 61, p. 1226-1232, 1997.

DOURADO-NETO, D.; POWLSON, D.; BAKAR, R. A.; BACCHI, O. O. S.; BASANTA, M. V.; CONG, P. T.; KEERTHISINGHE, G.; ISMAILI, M.; RAHMAN, S. M.; REICHARDT, K.; SAFWAT, M. S. A.; SANGAKKARA, R.; TIMM, L. C.; WANG, J. Y.; ZAGAL, E.; KESSEL, C. van. Multiseason recoveries of organic and inorganic nitrogen-15 in tropical cropping systems. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 74, p. 139-152, 2010.

EGBHALL, B. Nitrogen mineralization from field-applied beef cattle feedlot manure or compost. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 64, p. 2024-2030, 2000.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2 ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 2006. 367p.

ENO, C. F. Nitrate production in the field by incubating the soil in polyethylene bags. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 24, p. 277-279, 1960.

GAVA, G. J. C.; TRIVELIN, P. C. O.; OLIVEIRA, M. W.; HEINRICHS, R.; SILVA, M. A. Balanço do nitrogênio da uréia (^{15}N) no sistema solo-planta na implantação da semeadura direta na cultura do milho. **Bragantia**, Campinas, v. 65, p. 477-486, 2006.

GONÇALVES, J. L. M.; MENDES, K. C. F. S.; SASAKI, C. M. Mineralização de nitrogênio em ecossistemas florestais naturais e implantados do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, p. 601-616, 2001.

HAGEDORN, F.; STEINER, K. G.; SEKAYANGE, L.; ZECH, W. Effect of rainfall pattern on nitrogen mineralization and leaching in a green manure experiment in South Rwanda. **Plant and Soil**, The Hague, v. 195, p. 365-375, 1997.

HANSELMAN, T. A.; GRAETZ, D. A.; OBREZA, T. A. A comparison of *in situ* methods for measuring net nitrogen mineralization rates of organic soil amendments. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 33, p. 1098-1105, 2004.

HAVLIN, J. L.; BEATON, J. D.; TISDALE, S. L.; NELSON, W. L. **Soil fertility and fertilizers**: An introduction to nutrient management. 7. ed. New Jersey: Pearson Education, 2005. 515p.

HONEYCUTT, C. W.; GRIFFIN, T. S.; WIENHOLD, B. J.; EGHBALL, B.; ALBRECHT, S. L.; POWELL, J. M.; WOODBURY, B. L.; SISTANI, K. R.; HUBBARD, R. K.; TORBERT, H. A. Protocols for nationally coordinated laboratory and field research on manure nitrogen mineralization. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 36, p. 2807-2822, 2005.

KEENEY, D. R.; BREMNER, J. M. Effect of cultivation on nitrogen distribution in soil. **Proceeding in Soil Science Society of America**, Madison, v. 28, p. 653-656, 1964.

KEENEY, D. R.; BREMNER, J. M. Comparison and evaluation of laboratory methods of obtaining an index of soil nitrogen availability. **Agronomy Journal**, Madison, v. 58, p. 498-503, 1966.

KHAN, S. A.; MULVANEY, R. L.; HOEFT, R. G. A simple soil test for detecting sites that are nonresponsive to nitrogen fertilization. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 1751-1760, 2001.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1985. 492p.

KJONAAS, O. J. *In situ* efficiency of ion exchange resins in studies of nitrogen transformation. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 63, p. 399–409, 1999.

KLAPWYK, J. H.; KETTERINGS, Q. M. Soil tests for predicting corn response to nitrogen fertilizer in New York. **Agronomy Journal**, Madison, v. 98, p. 675–681, 2006.

KOCK, O.; TSCHERKO, D.; KANDELER, E. Temperature sensitivity of microbial respiration, nitrogen mineralization, and potential soil enzymes activities in organic alpine soils. **Global Biogeochemical Cycles**, Washington, v. 21, p. 1-11. 2007.

KOLBERG, R. L.; ROUPPET, B.; WESTFALL, D. G.; PETERSON, G. A. Evaluation of an *in situ* net soil nitrogen mineralization method in dryland agroecosystems. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 61, p. 504-508, 1997.

LABOSKI, C. A. M.; SAWYER, J. E.; WALTERS, D. T.; BUNDY, L. G.; HOEFT, R. G.; RANDALL, G. W.; ANDRASKI, T. W. Evaluation of the Illinois soil nitrogen test in the north central region of the United States. **Agronomy Journal**, Madison, v. 100, p. 1070–1076, 2008.

LARA CABEZAS, W. A. R.; TRIVELIN, P. C. O.; KONDÖRFER, G. H.; PEREIRA, S. Balanço da adubação nitrogenada sólida e fluida de cobertura na cultura do milho, em sistema plantio direto no triângulo mineiro (MG). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 363-376, 2000.

LAWRENCE, J. R.; KETTERINGS, Q. M.; GOLER, M. G.; CHERNEY, J. H.; COX, W. J.; CZYMMEK, J. Illinois soil nitrogen test with organic matter correction for predicting nitrogen responsiveness of corn in rotation. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 73, p. 303–311, 2009.

LU, H.; LI, S.; JIN, F.; SHAO, M. Contributions of organic nitrogen forms to mineralized nitrogen during incubation experiments of the soils on the Loess Plateau. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 40, p. 3399-3419, 2009.

LUCE, M. S.; WHALEN, J. K.; ZIADI, N.; ZEBARTH, B. Nitrogen dynamics and indices to predict soil nitrogen supply in humid temperate soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 112, p. 55-102, 2011.

MA, B. L.; DWYER, L. M.; GREGORICH, E. G. Soil nitrogen amendments effects on nitrogen uptake and grain yield of maize. **Agronomy Journal**, Madison, v. 91, p. 650–656, 1999.

MARIANO, E.; TRIVELIN, P. C. O.; LEITE, J. M.; MEGDA, M. X. V.; OTTO, R.; FRANCO, H. C. K. Incubation methods for assessing mineralizable nitrogen in soils

under sugarcane. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 37, p. 450-461, 2013.

MARRIOTT, E. E.; WANDER, M. M. Total and labile soil organic matter in organic and conventional farming systems. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 70, p. 950–959, 2006.

MOBERG, D. P.; JOHNSON, R. L.; SULLIVAN, D. M. Comparison of disturbed and undisturbed soil core methods to estimate nitrogen-mineralization rates in manured agricultural soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 44, p. 1722–1732, 2013.

MOHAPATRA, S. P. Fractions of soil nitrogen during different periods of submergence and their effects on yield and nutrition of wetland rice (*Oryza sativa* L.). **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 6, p. 45-49, 1988.

MOLINA, J. A. E.; CLAPP, C. E.; LARSON, W. E. Potentially mineralizable nitrogen in soil: the simple exponential model does not apply for the first 12 weeks of incubation. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 44, p. 442-443, 1980.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2002. 625p.

MULVANEY, R. L. Nitrogen – Inorganic forms. In: SPARKS, D.L. et al. (Eds.) **Methods of soil analysis**. Part 3. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p. 1123–1184.

MULVANEY, R. L.; KHAN, S. A. Diffusion methods to determine different forms of nitrogen in soil hydrolysates. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 1284-1292, 2001.

MULVANEY, R. L.; KHAN, S. A.; ELLSWORTH, T. R. Need for a soil-based approach in managing nitrogen fertilizers for profitable corn production. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 70, p. 172–182, 2006.

MULVANEY, R. L.; KHAN, S. A.; HOEFT, R. G.; BROWN, H. M. A soil organic nitrogen fraction that reduces the need for nitrogen fertilization. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 1164–1172, 2001.

MULVANEY, R. L.; KHAN, S. A.; STEVENS, W. B.; MULVANEY, C. S. Improved diffusion methods for determination of inorganic nitrogen in soil extracts and water. **Biology and Fertility Soils**, Berlin, v. 24, p. 413–420, 1997.

OSTERHAUS, J.T.; BUNDY, L. G.; ANDRASKI, T. W. Evaluation of the Illinois soil nitrogen test for predicting corn nitrogen needs. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 72, p. 143–150, 2008.

OTTO, R.; MULVANEY, R. L.; KHAN, S. A.; TRIVELIN, P. C. O. Quantifying soil nitrogen mineralization to improve fertilizer nitrogen management of sugarcane. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 1, p. 1-12, 2013.

PARKER, C. F.; SOMMERS, L. E. Mineralization of nitrogen in sewage sludge. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 12, p. 150-156, 1983.

PINHO, R. G.; BORGES, I. D.; PEREIRA, J. L. A.; REIS, M. C. Marcha de absorção de macronutrientes e acúmulo de matéria seca em milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 8, p. 157-173, 2009.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Eds.) **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001. 285p.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Eds.) **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1996. p. 56-59. (Boletim técnico, 100)

RAIJ, B. van; QUAGGIO, J.A. Determinação de fósforo, cálcio, magnésio e potássio extraídos com resina trocadora de íons. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Eds.) **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001. p. 189-199.

REDDY, K. S.; SINGH, M.; TRIPATHI, A. K.; SINGH, M.; SAHA, M. N. Changes in amount of organic and inorganic fractions of nitrogen in an Eutrochrept soil after long-term cropping with different fertilizer and organic inputs. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 166, p. 232-238, 2003.

RHODEN, A.C.; SILVA, L.S.; CAMARGO, F.A.O.; BRITZKE, D.; BENEDETTI, E.L. Mineralização anaeróbia do nitrogênio em solos de várzea do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, p. 1780-1787, 2006.

RUFFO, M. L.; BOLLERO, G. A.; BULLOCK, D. S.; BULLOCK, D. G. Site-specific production functions for variable rate corn nitrogen fertilization. **Precision Agriculture**, Dordrecht, v. 7, p. 327-342, 2006.

SAHRAWAT, K.L. Factors affecting nitrification in soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 39, p. 1436-1446, 2008.

SCHNITZER, M.; HINDLE, D. A. Effects of different methods of acid hydrolysis on the nitrogen distribution in two soils. **Plant and Soil**, The Hague, v. 60, p. 237-243, 1981.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. The chemistry of soil organic nitrogen: a review. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 26, p. 1-15, 1998.

SIERRA, J. Nitrogen mineralization and nitrification in a tropical soil: effects of fluctuating temperature conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 34, p. 1219–1226, 2002.

SIERRA, J. Temperature and soil moisture dependence of N mineralization in intact soil cores. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 29, p. 1557–1563, 1997.

SILVA, C. A.; VALE, F. R.; ANDERSON, S. J.; KOBAL, A. R. Mineralização de nitrogênio e enxofre em solos brasileiros sob influência da calagem e fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, p. 1679-1689, 1999.

SIMS, J. T. Nitrogen mineralization and elemental availability in soils amended with co-composted sewage sludge. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 19, p. 669–675, 1990.

SPARGO, J. T.; ALLEY, M. M.; THOMASON, W. E.; NAGLE, S. M. Illinois soil nitrogen test for prediction of fertilizer nitrogen needs of corn in Virginia. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 73, p. 434-442, 2009.

STANFORD, G.; FRERE, M. H.; SCHWANINGER, D. H. Temperature coefficient of soil nitrogen mineralization. **Soil Science**, Baltimore, v. 115, p. 321–323, 1973.

STANFORD, G.; SMITH, S. J. Nitrogen mineralization potentials of soil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 36, p. 465-471, 1972.

STEVENS, W. B.; MULVANEY, R. L.; KHAN, S. A.; HOEFT, R. G. Improved diffusion methods for nitrogen and ¹⁵nitrogen analysis of Kjeldahl digests. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 83, p. 1039-1046, 2000.

STEVENSON, F. J. Nitrogen - Organic forms. In: PAGE, A.L. et al. (Eds.) **Methods of soil analysis**. Part 2. Madison: Soil Science Society of America, 1982. p. 625-641.

STEVENSON, F. J. Nitrogen-Organic forms. In: SPARKS, D.L. et al. (Eds.) **Methods of soil analysis**. Part 3. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p. 1185-1200.

SUBLER, S.; PARMELEE, R. W.; ALLEN, M. F. Comparison of buried bag and PVC core methods for *in situ* measurement of nitrogen mineralization rates in an agricultural soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 26, p. 2369-2381, 1995.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 147p.

VAN KESSEL, J. S.; REEVES, J. B. Nitrogen mineralization potential of dairy manures and its relationship to composition. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 36, p. 118–123, 2002.

VOLPE, C. A.; CARGNELUTTI FILHO, A.; CARDOZO, N. P. Variabilidade temporal e espacial da temperatura do solo sob diferentes coberturas do solo, em Jaboticabal, São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMETEOROLOGIA, 4., Ribeirão Preto, 2006. **Resumos**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Biometria, 2006. 4p.

WIENHOLD, B. J. Comparison of laboratory methods and *in situ* method for estimating nitrogen mineralization in an irrigated silt-loam soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 38, p. 1721-1732, 2007.

WIENHOLD, B. J.; VARVEL, G. E.; WILHELM, W. W. Container and installation time effects on soil moisture, temperature, and inorganic nitrogen retention for an *in situ* nitrogen mineralization method. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 40, p. 2044-2057. 2009.

WILLIAMS, J. D.; CROZIER, C. R.; WHITE, J. G.; HEINIGER, R. W.; SRIPADA, R. P.; CROUSE, D. A. Illinois soil nitrogen test predicts southeastern US corn economic optimum nitrogen rates. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 71, p. 735–744, 2007a.

WILLIAMS, J. D.; CROZIER, C. R.; WHITE, J. G.; HEINIGER, R. W.; SRIPADA, R. P.; CROUSE, D. A. Comparison of soil nitrogen tests for corn fertilizer recommendations in the humid southeastern USA. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 71, p. 171– 180, 2007b.

YAGI, R.; FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P.; BARBOSA, J. C. Mineralização potencial e líquida de nitrogênio em solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 385-394, 2009.