

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

**AVALIAÇÃO DO NITROGÊNIO ORGÂNICO
MINERALIZÁVEL EM SOLO CULTIVADO COM MILHO EM
SUCESSÃO A PLANTAS DE COBERTURA**

Aline Carla Trombeta Bettiol
Engenheira Agrônoma

2018

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

**AVALIAÇÃO DO NITROGÊNIO ORGÂNICO
MINERALIZÁVEL EM SOLO CULTIVADO COM MILHO EM
SUCESSÃO A PLANTAS DE COBERTURA**

Aline Carla Trombeta Bettioli

Orientadora: Profa. Dra. Mara Cristina Pessôa da Cruz

Co-orientador: Prof. Dr. Itamar Andrioli

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Agronomia (Ciência do Solo)

B565a Bettiol, Aline Carla Trombeta
Avaliação do nitrogênio orgânico mineralizável em solo cultivado
com milho em sucessão a plantas de cobertura / Aline Carla Trombeta
Bettiol. – – Jaboticabal, 2018
iii, 52 p. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2018

Orientadora: Mara Cristina Pessôa da Cruz

Banca examinadora: Felipe Batistella Filho, Renato Yagi, José
Ricardo Mantovani, Manoel Evaristo Ferreira.

Bibliografia

1. Métodos de extração de N do solo. 2. Recomendação de
adubação nitrogenada. 3. Plantio direto. I. Título. II. Jaboticabal-
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.53:631.84

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



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: AVALIAÇÃO DO NITROGÊNIO ORGÂNICO MINERALIZÁVEL EM SOLO CULTIVADO COM MILHO EM SUCESSÃO A PLANTAS DE COBERTURA

AUTORA: ALINE CARLA TROMBETA BETTIOL

ORIENTADORA: MARA CRISTINA PESSOA DA CRUZ

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (CIÊNCIA DO SOLO), pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MARA CRISTINA PESSOA DA CRUZ
Departamento de Solos e Adubos / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. JOSÉ RICARDO MANTOVANI
Instituto de Ciências Agrárias / UNIFENAS - Alfenas/MG

Prof. Dr. MANOEL EVARISTO FERREIRA
Departamento de Solos e Adubos / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Pesquisador Dr. RENATO YAGI
Instituto Agrônomo do Paraná / Estação Experimental de Ponta Grossa/PR

Prof. Dr. FELIPE BATISTELLA FILHO
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo / IFSP - Matão/SP

Jaboticabal, 18 de abril de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Aline Carla Trombeta Bettiol – nascida em 10 de maio de 1989, na cidade de Santa Fé do Sul – SP. Concluiu o ensino médio em dezembro de 2006, no colégio COC - Cecafe- Santa Fé do Sul. É Engenheira Agrônoma formada pela Universidade Estadual Paulista (Unesp), Câmpus de Ilha Solteira (2007-2011) e Mestre em Agronomia (Ciência do Solo), pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Unesp, Câmpus de Jaboticabal (2012-2014). Durante o mestrado foi bolsista CAPES. Em agosto de 2014 iniciou o curso de Doutorado no Programa de Pós-graduação em Agronomia (Ciência do Solo), na FCAV, UNESP, Câmpus de Jaboticabal. Durante o doutorado foi bolsista da Fundação Agrisus e da CAPES. Foi bolsista didático (agosto à dezembro de 2017) junto ao Departamento de Tecnologia da FCAV-Jaboticabal, para ministrar a disciplina de Química Analítica para alunos do curso de Zootecnia.

“O mundo é um livro, e quem fica sentado em casa lê somente uma página”.

Santo Agostinho

Aos meus pais Carlos e Cida, e ao meu irmão João Víctor, pelo apoio, amor, dedicação, por tudo que fizeram, fazem e farão por mim. Mais essa etapa vencida é dedicada a vocês, porque participaram ativamente para que ela pudesse ser concluída. Dedico a vocês todas as vitórias, porque são a razão do meu esforço e dedicação.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, pelas oportunidades concedidas e pelas vitórias alcançadas!

Aos meus pais Carlos e Cida, pelo apoio incondicional, desde sempre. Pelo amor sem limites, pela confiança na minha capacidade, pelas orações. Pelo incentivo em buscar um futuro brilhante, baseado no estudo. Pela lição de vida a mim ensinada todos os dias, de que tudo na vida vem mediante o esforço e dedicação! Por abrirem mão de muitas coisas para que eu chegasse onde estou! Amo muito vocês!

Ao meu irmão João Vítor pelo apoio, amizade, torcida!

Aos professores Mara e Manoel Evaristo, que me orientaram não só para o desenvolvimento do trabalho, mas também para a vida profissional. O ensinamento mais valioso que levo, é o amor, o respeito e a ética pela profissão.

À Professora Mara Cristina Pessôa da Cruz, que me acolheu de braços abertos no Laboratório de Fertilidade do Solo e muito mais que uma orientadora se tornou uma grande amiga! Obrigada pelos ensinamentos e por toda a ajuda que me deu para que eu pudesse terminar o doutorado, sem a senhora não teria conseguido.

Ao Professor Manoel Evaristo Ferreira, que com toda sua experiência, esteve sempre disposto a dar opiniões valiosas ao desenvolvimento deste trabalho, não só na teoria, mas na prática!

Ao Professor Itamar Andrioli, pela co-orientação e por ter gentilmente cedido a área para a coleta das amostras de solo e todas as informações referentes à área do experimento, muito obrigada.

Aos Professores Manoel Evaristo Ferreira e Felipe Batistella Filho, pelas contribuições no exame geral de qualificação.

Aos amigos de laboratório, Lucas Boscov Braos, Cássia Rita Adame, Samira Furtado de Queiroz, Tayene Franco Mello. Obrigada por tudo, principalmente pelo carinho de vocês. Lucas, serei grata sempre, por sua participação valiosa nas

coletas de amostras e análises, todas as idas ao experimento e pela sua generosidade e prontidão em ajudar.

Aos funcionários da fazenda da FCAV, por toda a ajuda na condução do experimento.

À Fundação Agrisus (Projetos nº 1638/15 e 1892/16) e à CAPES pelas bolsas concedidas.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização e sucesso deste trabalho!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Nitrogênio no solo em sistema plantio direto com plantas de cobertura e reflexos na produtividade	3
2.2 Métodos de avaliação de N potencialmente disponível	5
3. MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1 Localização, solo, delineamento experimental e tratamentos.....	9
3.2 Dados climáticos.....	10
3.3 Coleta das amostras de solo, instalação e condução do experimento nas safras 2015/2016 e 2016/2017.....	11
3.4 Avaliação da produção de massa e caracterização das plantas de cobertura e do milho.....	12
3.5 Determinação do N orgânico potencialmente mineralizável nas amostras de solo.....	14
3.6 Forma de análise dos resultados.....	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4.1 Medidas de referência de N disponível: N_{abs} , N_0 , N_{mac}	17
4.2 Carbono total e nitrogênio total do solo.....	25
4.3 Nitrogênio orgânico mineralizável avaliado por métodos químicos.....	28
4.3.1 Fosfato de cálcio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$	28
4.3.2 Cloreto de cálcio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$	29
4.3.3 Cloreto de potássio 2 mol L^{-1}	32
4.3.4 Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT).....	34
4.3.5 Destilação a vapor direta (DVD).....	37
4.4 Seleção de método químico para avaliação do N disponível.....	40
5. CONCLUSÃO.....	42
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

AVALIAÇÃO DO NITROGÊNIO ORGÂNICO MINERALIZÁVEL EM SOLO CULTIVADO COM MILHO EM SUCESSÃO A PLANTAS DE COBERTURA

RESUMO - Na última década, a análise de solo para medida do N orgânico mineralizável passou da condição de inviável para promissora, particularmente a partir de estudos feitos nos EUA e da proposição de dois novos métodos de hidrólise alcalina, o Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT) e o método da destilação a vapor direta (DVD). O objetivo com o presente trabalho foi avaliar o potencial de fornecimento de N do solo para a cultura do milho em amostras de solo coletadas em experimento instalado em 2000/2001, no qual estão sendo cultivadas plantas de cobertura em pré-safra (mucuna, feijão-de-porco, milheto e vegetação espontânea), combinadas com doses de N em cobertura na cultura do milho (0, 60, 120 e 180 kg ha⁻¹). As amostras de solo foram coletadas após a colheita do milho nas safras 2014/2015 e 2015/2016. Nestas amostras foi feita extração do N orgânico mineralizável empregando hidrólise alcalina, por meio dos métodos ISNT e DVD, e também utilizando soluções salinas de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹, Ca(H₂PO₄)₂ 0,01 mol L⁻¹ e KCl 2 mol L⁻¹, todas com aquecimento. Com as mesmas amostras foi conduzido ensaio de incubação, em laboratório, empregando colunas de percolação, para obter o N potencialmente mineralizável (N₀) e o nitrogênio mineralizado acumulado aos 210 dias de incubação (N_{mac}), e do experimento no campo foi obtido o N absorvido pelo milho (N_{abs}). Os dados obtidos com os métodos químicos foram correlacionados com N_{abs}, N₀ e N_{mac}. Entre os métodos avaliados o ISNT e a DVD foram os que apresentaram correlação com N₀ e N_{abs} e podem ser considerados os índices de disponibilidade de N mais promissores para uso em áreas em plantio direto com cultivo de plantas de cobertura.

“Palavras – chave:” métodos de extração de N do solo, recomendação de adubação nitrogenada, plantio direto.

EVALUATION OF MINERALIZABLE ORGANIC NITROGEN IN SOIL CROPPED WITH MAIZE SOWN IN SUCCESSION TO COVER CROPS

ABSTRACT – In the past decade, soil analysis to predict mineralizable organic nitrogen went from impracticable to promising, particularly due studies carried out in USA and the proposition of two new alkali hydrolysis methods, the Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT) and the direct steam distillation (DSD). The objective of the study was to evaluate the potentially supply of N to the maize crop in samples collected from a trial installed in 2000/2001, in which are being cropped with cover crops before maize sown (velvet bean, jack bean, millet, spontaneous vegetation), combined with side dress N fertilizer doses in the maize crop (0, 60, 120, 180 kg ha⁻¹). Soil samples were collected after maize harvest, in the 2014/2015 and 2015/2016 seasons. In these samples were performed the extraction of the mineralizable organic N using alkali extraction with ISNT and DSD methods and also using hot saline solutions, such as 0.01 mol L⁻¹ CaCl₂, 0.01 mol L⁻¹ Ca(H₂PO₄)₂, and 2 mol L⁻¹ KCl. In the same samples it was also carried out laboratory incubation, using leaching columns, to obtain the potentially mineralizable N (N₀) and the mineralized N accumulated after 210 days of incubation (N_{mac}). From the plants growth in field trial was determined the N uptake by the maize plants (N_{up}). The results obtained from the chemical methods were correlated with the N_{up}, N₀, and N_{mac}. Among all others, the ISNT and the DSD showed higher correlation with N₀ and N_{up} and may be considered as the most promising N availability indexes for use in no-till systems with cover crops.

“Keywords:” Soil N extraction methods, nitrogen fertilization recommendation, no-tillage.

1. INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N) é o nutriente requerido em maior quantidade pela cultura do milho e, por isso, em muitas situações, há limitação de produtividade devido à deficiência. Em anos nos quais as condições climáticas são favoráveis, a quantidade de N requerida para aumentar a produtividade de grãos de milho pode ultrapassar 150 kg ha^{-1} . Como a quantidade de N exigida é muito grande, ela normalmente não é suprida exclusivamente pelo solo, e o fornecimento exclusivo pelo fertilizante industrial aumenta o custo de produção e pode, ao longo do tempo, comprometer a qualidade do ambiente, como já ocorre em países industrializados, particularmente pelas perdas de NO_3^- por lixiviação.

O uso combinado de plantas de cobertura e fertilizante industrial pode ser a forma mais eficiente de manejar o sistema em longo prazo. Se a este tipo de manejo for associada uma ferramenta de avaliação do potencial de fornecimento de N pelo solo para a cultura do milho pode-se aumentar a precisão das recomendações de adubação. Isso significa que há necessidade de prever a quantidade de N orgânico que pode ser transformado em N mineral no intervalo de crescimento da cultura. Esta previsão é muito difícil de ser feita porque o N está sujeito a muitas transformações no solo, a maior parte delas muito rápida, e destas transformações podem resultar tanto aumento quanto diminuição na disponibilidade de N para as plantas.

Para medir a taxa de mineralização do N orgânico são utilizados métodos de incubação de amostras de solo em laboratório, que são, de modo geral, ensaios de longa duração, e também podem ser usados procedimentos mais simples, como os métodos químicos, entre os quais estão as soluções de $\text{KCl } 2 \text{ mol L}^{-1}$ a quente, o Illinois Soil Nitrogen Test-ISNT e o método de destilação a vapor direta (DVD), todos com bons resultados na literatura, mas nenhum ainda adotado em sistemas de recomendação de adubação nitrogenada.

No Estado de São Paulo, devido ao predomínio da monocultura da cana-de-açúcar, plantio direto e plantas de cobertura são pouco utilizados. Predomina no Estado a ocorrência de inverno seco e, deste modo, cultivar a planta de cobertura

após a colheita do milho pode resultar em produção de massa muito pequena, insuficiente para formar cobertura. Particularmente na região nordeste do Estado, as chuvas são tardias e os agricultores não fazem a semeadura nas primeiras chuvas devido ao risco de perda. Este cenário abre a possibilidade de aproveitar as primeiras chuvas, normalmente em outubro, para semeadura de plantas de cobertura antecedendo a cultura principal.

No município de Jaboticabal, localizado na região nordeste do Estado de São Paulo, o inverno é seco e as chuvas têm iniciado entre meados de outubro e meados de novembro. Na FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, foi instalado experimento em 2000/2001, para avaliar os efeitos do cultivo de plantas de cobertura, leguminosas e gramíneas, em pré-safra à cultura do milho. Nos três últimos anos, a produtividade de grãos de milho na área do experimento variou de 6,2 a 8,9 t ha⁻¹ (OLIVEIRA, 2015), o que indica a viabilidade do sistema. Em amostras de solo deste experimento, foram feitas avaliações do potencial de fornecimento de N do solo para o milho partindo-se da hipótese de que é possível diferenciar a disponibilidade de N em solos cultivados com leguminosas e gramíneas de cobertura usando métodos biológicos e químicos. O objetivo geral com a pesquisa realizada foi medir o potencial de fornecimento de N do solo para a cultura do milho em função de doses de N em cobertura e do cultivo de plantas de cobertura em pré-safra, em experimento que vem sendo conduzido na mesma área desde 2000/2001. Os objetivos específicos foram: (i) avaliar o N potencialmente mineralizável (N₀) do solo empregando método biológico de incubação em laboratório; (ii) avaliar o N orgânico potencialmente disponível empregando métodos químicos; (iii) avaliar a eficiência de extratores de N orgânico potencialmente disponível usando o N absorvido pelo milho cultivado em sucessão a milheto ou leguminosas de cobertura e o N₀ como referências de disponibilidade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nitrogênio no solo em plantio direto com plantas de cobertura e reflexos na produtividade

O N é o componente do solo que ocupa posição única entre os elementos essenciais às plantas, pois as culturas agrícolas exigem proporcionalmente mais N do que outros nutrientes para alcançar o máximo rendimento. As plantas que não recebem N suficiente apresentam crescimento atrofiado e amarelecimento gradual das folhas, porém respondem rapidamente à sua entrada no sistema (St LUCE et al., 2011).

A quantidade total de N no solo está entre 0,05% e 0,5%. Na matéria orgânica do solo (MOS) o N está em numerosos compostos orgânicos e, geralmente, menos de 5% da quantidade total do elemento ocorre em formas inorgânicas como amônio e nitrato (WHIETHÖLTER, 2000).

A MOS é a principal fonte de N para as plantas. Entretanto, ela não consegue atender a alta demanda de N pelas culturas comerciais, principalmente em solos degradados, nos quais o baixo conteúdo de MOS torna a disponibilidade de N ainda menor. Assim, a adição de fertilizantes nitrogenados industriais e a utilização de leguminosas fixadoras de N₂ são práticas necessárias para aumentar a disponibilidade de N em agroecossistemas (PEOPLES; HERRIDGE, LADHA, 1995).

O fornecimento exclusivo de N via fertilizante industrial aumenta o custo de produção e pode, ao longo do tempo, comprometer a qualidade do ambiente. Deste modo, o uso combinado de plantas de cobertura e fertilizantes industriais pode ser a forma mais eficiente de manejar os sistemas produtivos em longo prazo. Nos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, a cultura de cobertura antecessora já é um dos critérios para a recomendação de adubação nitrogenada para o milho em sistema plantio direto (AMADO; MIELNICZUK; AITA, 2002).

Alternativamente à adubação mineral, o cultivo de leguminosas é uma maneira importante de adicionar N via fixação biológica e de reciclar outros nutrientes, devido à liberação lenta e em sincronia com as necessidades das plantas (AMADO; MIELNICZUK; AITA, 2002; ARAÚJO et al., 2005; TORRES; PEREIRA;

FABIAN, 2008). De modo geral, leguminosas e outras culturas de cobertura, usadas para formar a cobertura do solo no sistema de plantio direto (SPD), desempenham papel fundamental na ciclagem de nutrientes, tanto daqueles adicionados por meio dos fertilizantes industriais e não aproveitados pelas culturas comerciais, quanto daqueles provenientes da mineralização da MOS (TORRES; PEREIRA; FABIAN, 2008).

Têm sido observados vários efeitos benéficos de plantas de cobertura nas propriedades do solo e no rendimento das culturas, decorrentes da produção de fitomassa, acúmulo e posterior liberação de nutrientes pela decomposição da palha (CALONEGO; FOLONI; ROSOLEM, 2005; TORRES et al., 2005; BOER et al., 2007). No entanto, Machado e Assis (2010) não observaram efeito de oito espécies de plantas de cobertura do solo usadas na entressafra da soja, na produtividade de grãos, apesar da elevada produção de matéria seca pelas plantas.

Alterações no manejo do solo e das espécies cultivadas podem causar mudanças na qualidade e na quantidade da matéria orgânica, na quantidade e nas formas de N no solo, principalmente no processo de mineralização, na eficiência de aproveitamento de fertilizantes pelas plantas e na sua movimentação para as camadas mais profundas do solo, o que resulta em alteração da produtividade das culturas (VASCONCELLOS et al., 2001).

As práticas de manejo agrícola, como a rotação de culturas e a adição de adubos orgânicos e inorgânicos, afetam a mineralização e o fornecimento de N do solo através dos seus efeitos no reservatório de N orgânico, atividade microbiana e agregação do solo (SHARIFI et al., 2008; TAN et al., 2007).

A mineralização de compostos nitrogenados orgânicos em inorgânicos é considerada a principal fonte de N disponível para a planta e gera o suprimento de N do solo; também é um ponto de partida importante para perdas potenciais de N e impactos ambientais adversos (MYROLD; BOTTOMLEY, 2008). A mineralização de N é raramente suficiente para levar ao rendimento máximo possível com cultivares de alta produtividade e, deste modo, a adição de fertilizante mineral ou fontes orgânicas (por exemplo, esterco e resíduos de plantas) é necessária (ST LUCE et al., 2011).

O N disponível para as plantas depende, entre muitos fatores, da quantidade de MOS (AMADO et al., 2001), da característica dos resíduos vegetais (TRINSOUTROT et al., 2000), do manejo adotado (KRISTENSEN; DEBOSZ; McCARTY, 2003), do tipo de solo (THOMSEN et al., 2000), da umidade, da aeração e da temperatura do solo (SIERRA; MARBÁN, 2000).

Apesar das muitas variáveis que interferem na disponibilidade de N, admite-se que entre 1 e 4% do N orgânico total do solo seja mineralizado como N disponível para as plantas (N-NH_4^+ e N-NO_3^-) a cada ano (TISDALE; NELSON; BEATON, 1985).

A contribuição dos adubos nitrogenados nos insumos totais, nos sistemas agrícolas, aumentou de apenas 7% em 1950 para 43% em 1996 (MOSIER, 2001) e continua aumentando, especialmente em regiões onde a disponibilidade de solos aptos para cultivo está diminuindo (MOSIER, 2001). A melhoria da eficiência de uso de N a partir do fertilizante é crítica, uma vez que a recuperação média global de N adicionado é de cerca de 50% (SMIL, 1999).

Comparativamente às fontes minerais, em que a recuperação do N pelos cereais está em torno de 50% (RAUN; JOHNSON, 1999; LARA CABEZAS et al., 2004; DUETE et al., 2008), a recuperação do N de adubos verdes pela primeira cultura em sucessão tem sido baixa, raramente superior a 20% (SCIVITTARO et al., 2000; ARAÚJO et al., 2005; SILVA et al., 2006). Isto indica a permanência de grande parte do N no solo e pode proporcionar efeito residual nos cultivos subsequentes por aumentar o estoque de N orgânico do solo (AMADO; MILNICZUK; AITA, 2002; SILVA et al., 2006). Assim, admite-se que a combinação de fontes orgânicas de N, na forma de adubos verdes, com fontes minerais, seja uma alternativa de manejo viável, por combinar efeitos imediatos e de longo prazo (SCIVITTARO et al., 2000; AMADO; MILNICZUK; AITA, 2002; ARAÚJO et al., 2005).

2.2 Métodos de avaliação de N potencialmente disponível

O conhecimento da quantidade de N que estará potencialmente disponível durante o ciclo da cultura é importante para melhorar o manejo de fertilizantes nitrogenados e, portanto, requer uma estimativa do tamanho do reservatório do N

orgânico lábil, que é degradado através de ação microbiana para liberar para a planta o N disponível (CURTIN; CAMPBELL, 2008).

Para medir a taxa de mineralização do N orgânico podem ser utilizados métodos classificados como os biológicos, nos quais se emprega incubação de amostras de solo em laboratório, e que são, de modo geral, de longa duração (STANFORD; SMITH, 1972). Com o emprego dos ensaios biológicos de longa duração e de modelos matemáticos, normalmente de cinética de primeira ordem, é possível estimar o N potencialmente mineralizável (N_0), que é um índice de disponibilidade de N para as plantas. A principal desvantagem dos ensaios de incubação de longa duração é exatamente a demora em gerar resultados.

Além dos métodos biológicos, a disponibilidade de N pode ser avaliada por meio de procedimentos mais simples, como os métodos químicos. Quando se empregam métodos químicos são extraídas frações do N orgânico que podem ser relacionadas estatisticamente com o N_0 , determinado por métodos biológicos, ou com o N absorvido em ensaios com plantas (SHARIFI et al., 2007; SCHOMBERG et al., 2009). Usando os métodos químicos determina-se o N orgânico convertido a formas minerais durante o processo de extração com água ou soluções salinas hidrolisantes (HAYNES, 2005). Quando os extratores são soluções hidrolíticas de sais, é feita avaliação de $N-NH_4^+$, do qual podem ou não ser subtraídos o $N-NH_4^+$ e o $N-NO_3^-$ preexistentes na amostra, ou, caso não seja usada solução hidrolítica, como quando se usa água como extrator, é determinado o N orgânico nos extratos (HAYNES, 2005).

A quantidade de N orgânico que é liberada quando a amostra de solo é submetida ao processo de extração depende da intensidade de extração do método que, por sua vez, vai variar de acordo com o tipo de sal, com a concentração da solução, a relação solo-solução, a duração e a temperatura de extração (ROS et al., 2009). Usando métodos químicos, a quantidade de N orgânico extraída varia de menos de 5% a mais de 50% do N total (ROS et al., 2009). Em função da intensidade de extração os métodos químicos usados para avaliação do N potencialmente mineralizável são classificados como brandos, se extraem menos de 5% do N total, moderados, se extraem de 5 a 50%, ou fortes, se extraem acima de 50% do N total do solo.

Entre as soluções salinas mais utilizadas para obtenção do N potencialmente mineralizável do solo está a de KCl 2 mol L^{-1} com aquecimento (GIANELLO; BREMNER, 1986) que, com frequência, tem gerado bons resultados, ou seja, são obtidas boas correlações com N absorvido (GIANELLO et al., 2000; VELTHOF; OENEMA, 2010; ROS; TEMMINGHOFF; HOFFLAND, 2011; BRAOS et al., 2016). A esta característica do método soma-se rapidez, simplicidade e baixo custo, o que torna a extração com solução de KCl promissora para adoção como procedimento de rotina.

A solução de CaCl_2 foi proposta para extração simultânea de vários elementos de interesse em análise de solo, considerando aspectos de simplicidade e baixo custo de análise, além de risco ambiental reduzido (HOUBA et al., 1986). Porém, a frio, a capacidade de extração da solução é baixa e exige equipamentos sensíveis para a quantificação (HOUBA et al., 1986). O emprego de aquecimento aumenta a força de extração da solução, permite extrair uma fração do N orgânico que pode representar, de forma mais adequada, o que seria o N potencialmente mineralizável, e resulta em melhor correlação com o N mineralizado em ensaio de incubação (CORDOVIL et al., 2007).

Braos et al. (2016) usaram a solução de CaCl_2 a quente para extração do N potencialmente mineralizável em um conjunto de 17 solos e obtiveram resultados satisfatórios do método na previsão do N potencialmente mineralizável, visto que o coeficiente de correlação com o N absorvido por plantas de milho foi de $0,93^{**}$.

A partir do método de fracionamento do N orgânico do solo, Khan, Mulvaney e Hoeft (2001) desenvolveram o Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT) que, como o método do KCl a quente, é um método rápido e simples, utilizado para estimar o N-NH_4^+ liberado por hidrólise com solução de $\text{NaOH } 2\text{ mol L}^{-1}$. Com este método obtém-se a estimativa da fração N-aminoaçúcares + N-NH_4^+ trocável do solo, que contém formas lábeis de N e pode ser considerada uma aproximação do N que ficará disponível durante o ciclo da espécie cultivada. Neste método, a quantificação do N é feita por difusão, em recipientes hermeticamente fechados, ou câmaras de difusão, que apesar de serem simples, não são comercializadas no Brasil. Como alternativa para o ISNT, Roberts et al. (2009) propuseram o método da destilação a vapor direta (DVD), também baseado em hidrólise alcalina. Do ponto de vista prático, o método

da DVD é uma alternativa interessante ao ISNT porque é rápido, com a extração sendo simultânea ao processo de destilação, o nível de precisão é alto (ROBERTS et al., 2009) e não há necessidade de uso das câmaras de difusão. Do ponto de vista teórico, a diferença entre os métodos é que com a DVD é extraída pequena quantidade de N-aminoácidos, além da fração N-aminoaçúcares + N-NH₄⁺ trocável (ROBERTS et al., 2009). Embora não haja unanimidade quanto à eficiência de ambos (ISNT e DVD), há relatos de bons resultados (MULVANEY; KHAN; ELLSWORTH, 2006; OTTO et al., 2013; BRAOS et al., 2016), o que justifica a sua avaliação em novas situações.

Apesar dos relatos de bons resultados, nenhum ainda foi adotado em sistemas de recomendação de adubação nitrogenada (ROS et al., 2011). O ISNT, embora ainda com resultados inconclusivos, tem sido recomendado, em algumas regiões dos EUA, para separar áreas de cultivo de milho que respondem e não respondem à adubação nitrogenada (KHAN et al., 2001).

No Estado de São Paulo, os métodos químicos de avaliação de N mineralizável vêm sendo avaliados na sua capacidade de previsão do N disponível para cana-de-açúcar (OTTO et al., 2013; MARIANO et al., 2017). A pesquisa é recente, já gerou resultados promissores (OTTO et al., 2013), mas há também resultados que apontam para a ineficiência de métodos químicos para prever o N disponível (MARIANO et al., 2017).

Para solos cultivados em plantio direto, com cultivo de leguminosas e gramíneas de cobertura, não há dados sobre a eficiência dos extratores de N na previsão da disponibilidade. Como este tipo de manejo altera a dinâmica do N no solo, particularmente pelo uso de leguminosas fixadoras de N₂, ter uma ferramenta de avaliação da disponibilidade de N para ajudar nas recomendações de adubação nitrogenada pode aumentar a eficiência e a sustentabilidade destes sistemas de produção.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização, solo, delineamento experimental e tratamentos

O experimento está instalado na área experimental da FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal-SP, localizada a 21°15'22" de latitude Sul e 48°16'43" de longitude Oeste. O solo do local é Latossolo Vermelho distrófico, textura argilosa típico (ANDRIOLI; CENTURION, 1999). A análise granulométrica da área, na camada de 0 a 20 cm, foi feita segundo método descrito em Donagema (2011) e foram obtidos 474 g kg⁻¹ de argila, 27 g kg⁻¹ de silte e 499 g kg⁻¹ de areia.

A área onde está o experimento vem sendo cultivada em plantio direto desde a safra 1998/99. No segundo semestre de 2000 foi instalado experimento utilizando plantas de cobertura, em pré-safra a cultura do milho.

O experimento está instalado em delineamento em blocos casualizados com parcelas subdivididas, e quatro repetições. Os tratamentos principais são as culturas de cobertura em pré-safra à cultura do milho: crotalária (*Crotalaria juncea*), feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), lablab (*Dolichos lablab* L.), milheto (*Pennisetum americanum*), mucuna-cinza (*Mucuna cinerea*) e vegetação espontânea (pousio). No tratamento vegetação espontânea, em levantamento realizado em 2013/2014 por Maruyama (2017), havia predominância de plantas daninhas das espécies picão-preto (*Eupatorium ballataefolium*), corda-de-viola (*Ipomoea* sp.), guanxuma (*Sida spinosa*), carrapicho-de-carneiro (*Acanthospermum hispidum*), fedegoso (*Senna occidentalis*), capim-colchão (*Digitaria horizontalis*) e leiteira (*Euphorbia heterophylla*). Os tratamentos secundários são quatro doses de N em cobertura na cultura do milho (0, 60, 120 e 180 kg ha⁻¹ de N-ureia). As parcelas medem 18 m x 7 m e as subparcelas, 4,5 m x 7 m. A crotalária foi cultivada até 2011/2012, mas devido à incidência de doenças, foi substituída a partir de 2012/2013 por guandu-anão.

As avaliações apresentadas nesta tese referem-se a amostras coletadas dezesseis anos após o início do experimento, nas safras 2015/2016 e 2016/2017.

Na Tabela 1 está a caracterização química mais recente da área do experimento, feita em amostras coletadas nas camadas de 0-5, 5-10 e 10-20 cm, no

ano agrícola de 2013/2014 (OLIVEIRA, 2015). A amostragem foi feita em todas as subparcelas e os dados da tabela são médias dos tratamentos. Os métodos usados nas análises químicas foram os que estão descritos em Raij et al. (2001).

Tabela 1. Média das plantas de cobertura nas doses de N para os atributos químicos do solo da área do experimento, 2013/2014.

Prof.	P resina	MO	pH CaCl ₂	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	H+Al	CTC	V
Cm	mg dm ⁻³	g dm ⁻³	mmol _c dm ⁻³						%
0-5	51	22	5,1	3,8	30	15	28	77	64
5-10	41	16	4,8	2,7	27	14	25	69	62
10-20	30	14	4,6	2,3	24	13	26	65	61

3.2 Dados climáticos

O clima do local do experimento é subtropical úmido com estiagem no inverno, classificado pelo Sistema Internacional de Classificação de Koppen como Awa. A precipitação pluvial anual média é de 1.424,6 mm e a temperatura média é 22,2°C (Estação Agroclimatológica, Unesp-Jaboticabal).

As condições climáticas do período da semeadura das plantas de cobertura à colheita do milho, nas safras 2015/2016 (A) e 2016/2017 (B) estão na Figura 1.

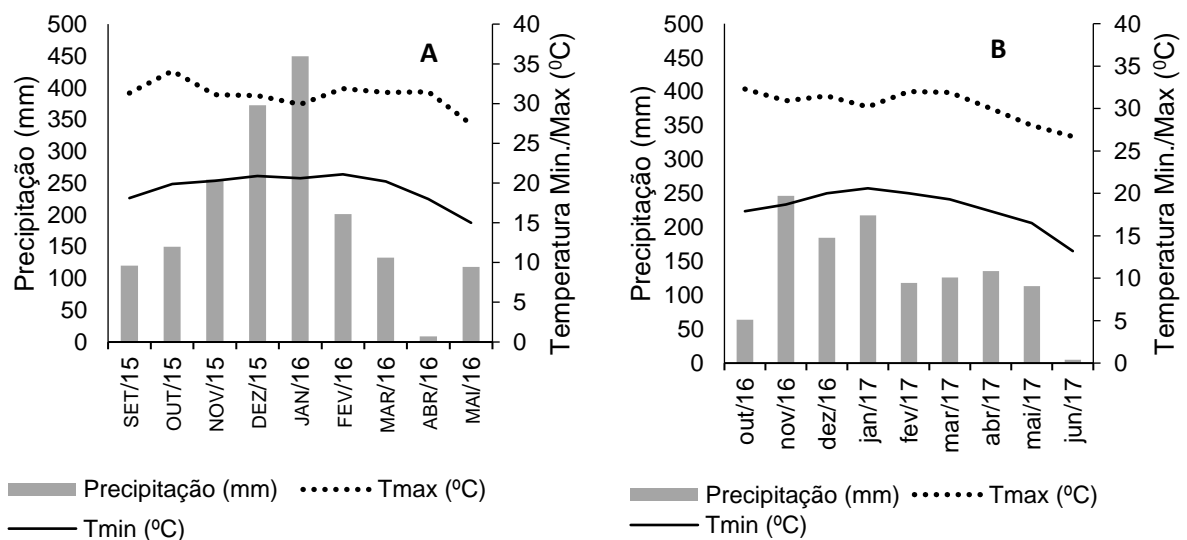


Figura 1. Condições climáticas da área do experimento nas safras 2015/2016 (A) e 2016/2017 (B).

3.3 Coleta das amostras de solo, instalação e condução do experimento nas safras 2015/2016 e 2016/2017

Após a colheita do milho (safras 2014/2015 e 2015/2016) foram coletadas amostras de solo nas parcelas cultivadas com quatro das seis plantas de cobertura, ou seja, feijão-de-porco, mucuna-cinza, milheto e vegetação espontânea, e em todas as subparcelas, nas quais têm-se as doses de N em cobertura no milho (0, 60, 120 e 180 kg ha⁻¹). As amostras foram coletadas nas entrelinhas da cultura do milho, na camada de 0-20 cm, coletando-se 15 amostras simples por amostra composta com auxílio de um trado holandês.

Nas safras 2015/2016 e 2016/2017, as culturas de cobertura foram semeadas em plantio direto, sem adubação de sementeira, em 23-09-2015 e 17-10-2016, respectivamente. Todas as espécies foram semeadas mecanicamente com espaçamento de 0,45 m nas entrelinhas, e a quantidade de sementes por metro linear foi de 4, 50 e 5, respectivamente de mucuna, milheto e feijão-de-porco. As amostragens das plantas de cobertura para avaliação da produção de matéria seca, determinação de nitrogênio e carbono total e composição bromatológica foram realizadas aos 72 e 77 DAS (dias após a sementeira), respectivamente em cada ano agrícola, no pleno florescimento das plantas de cobertura.

Na safra 2015/2016 a dessecação química das plantas de cobertura foi feita com o herbicida glifosato, aos 80 DAS. No mesmo dia (18-12-2015) foi feita a sementeira do milho (híbrido AS1633-PRÓ 2- Agroeste), com espaçamento de 0,90 m nas entrelinhas, totalizando cerca de 55.500 plantas ha⁻¹. A adubação de sementeira foi feita com 14 kg ha⁻¹ de N, 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 70 kg ha⁻¹ de K₂O (350 kg ha⁻¹ da fórmula 04-20-20).

Na safra 2016/2017 a dessecação das plantas de cobertura foi feita aos 91 DAS com os herbicidas glifosato (4 L ha⁻¹) + cletodim (0,5 L ha⁻¹). O milho foi semeado no dia 24-01-2017 (híbrido 2B710-PW-Dow) com espaçamento de 0,90 m nas entrelinhas. A adubação de sementeira foi feita com 28 kg ha⁻¹ de N, 98 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 56 kg ha⁻¹ de K₂O (350 kg ha⁻¹ da fórmula 08-28-16+Zn).

Em ambas as safras a sementeira do milho foi feita mecanicamente e as adubações nitrogenadas de cobertura foram feitas aos 31 e 20 DAS,

respectivamente, nas safras 2015/2016 e 2016/2017. Em ambos os agrícolas a fonte de N foi ureia.

Aos 141 e 105 DAS (safras 2015/2016 e 2016/2017, respectivamente) foram coletadas as plantas de milho de um metro linear (5 plantas), no estágio fenológico R6, para determinação de carbono e nitrogênio na matéria seca. Os dados obtidos foram utilizados para cálculo da relação C/N e da quantidade de N acumulada na matéria seca.

3.4 Avaliação da produção de massa e caracterização das plantas de cobertura e do milho

Para determinação da matéria seca (MS) e determinação de carbono (C), N e composição bromatológica das plantas de cobertura, foi realizada amostragem da parte aérea no momento do florescimento. Para a mucuna-cinza foram coletadas as plantas de 2 m², empregando um quadrado de 1 m² que foi lançado duas vezes na parcela. Na coleta, as plantas foram cortadas rente ao solo. Para a vegetação espontânea foi utilizado o mesmo procedimento, com um quadrado de 0,25 m² lançado quatro vezes na parcela. A amostragem do feijão-de-porco e do milheto foi feita coletando as plantas de dois metros lineares.

O material coletado foi lavado em solução de detergente neutro 1 mL L⁻¹, em água corrente e três vezes em água deionizada. Em seguida, foi feita secagem em estufa de circulação de ar forçada a 65-70°C até massa constante. Das amostras foram obtidos a produção de MS, as concentrações de C, N, celulose, hemicelulose e lignina. As determinações de C e N foram feitas em analisador elementar (LECO® CN 628). Nas determinações de lignina, celulose e hemicelulose foi empregado o método sequencial proposto pela Ankon Fiber Analyser (Ankon Technology Corporation, Fairport, NY), segundo adaptações de Campos et al. (2004) ao procedimento descrito em Goering e Van Soest (1970). Os dados obtidos na caracterização das plantas de cobertura estão nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Produção de matéria seca, concentrações de C e N e relação C/N das plantas de cobertura, safras 2015/2016 e 2016/2017.

Plantas de cobertura	Matéria seca	Carbono total	Nitrogênio total	Aporte de N	C/N
	t ha ⁻¹	----- g kg ⁻¹ -----	-----	kg ha ⁻¹	
2015/2016					
Vegetação espontânea	1,3	438,86	19,63	25	22
Mucuna-cinza	4,2	464,67	37,15	156	13
Feijão-de-porco	5,9	456,24	36,15	213	13
Milheto	16,6	456,39	10,79	179	42
2016/2017					
Vegetação espontânea	2,1	436,96	20,50	43	22
Mucuna-cinza	3,6	449,22	33,08	119	13
Feijão-de-porco	6,1	445,46	32,04	195	13
Milheto	11,4	438,46	9,05	103	42

Tabela 3. Celulose, hemicelulose e lignina determinados nas amostras das plantas de cobertura coletadas nas safras 2015/2016 e 2016/2017.

Plantas de cobertura	Celulose	Hemicelulose	Lignina
	----- % -----		
2015/2016			
Vegetação espontânea	25,92	24,00	3,48
Mucuna-cinza	27,97	19,59	9,74
Feijão-de-porco	25,53	19,99	8,06
Milheto	33,87	27,25	5,50
2016/2017			
Vegetação espontânea	24,50	20,76	6,73
Mucuna-cinza	30,19	14,70	12,40
Feijão-de-porco	22,92	20,34	5,89
Milheto	34,02	26,77	4,39

Para a determinação do nitrogênio acumulado na MS do milho foram coletadas, na área útil de cada subparcela, as plantas de um metro linear (5 plantas) na fase de maturação fisiológica (R6). O material coletado foi lavado em água corrente, seco em estufa a 65-70°C até massa constante, pesado e moído. Nas amostras moídas foram determinadas as concentrações de C e N, como descrito para as plantas de cobertura.

3.5 Determinação do N orgânico potencialmente mineralizável nas amostras de solo

Ensaio de incubação (STANFORD; SMITH, 1972). A determinação da taxa de mineralização de N orgânico do solo foi feita usando as amostras de solo coletadas após a colheita do milho, safra 2014/2015. Foram usadas colunas de vidro (18 cm de comprimento x 2 cm de diâmetro), contendo as amostras de solo e areia lavada, através das quais foi percolada solução extratora de N-mineral em intervalos de tempo predeterminados, de acordo com a proposta de Stanford e Smith (1972), com modificação na temperatura de incubação.

Nas colunas, mistura de solo e areia lavada (15 g: 15 g) foi colocada entre camadas de lã-de-vidro de 30 mm e 10 mm, inferior e superior, respectivamente. A temperatura de incubação foi de 18° C por 10 horas e 23°C por 14 horas, condição que simula a temperatura do solo no inverno, no município de Jaboticabal (VOLPE; CARGNELUTTI FILHO; CARDOZO, 2006) e que foi considerada por Kuhnen (2013) como a condição que melhor simula a mineralização no campo.

No início (tempo 0), e após 2, 4, 8, 12, 16, 22 e 30 semanas de incubação em câmara do tipo BOD, foram feitas extrações do N-mineral do solo por lixiviação de 100 mL de solução de CaCl_2 0,01 mol L⁻¹. Nos extratos, o N mineralizado (N-NH₄⁺ + N-NO₃⁻) foi determinado por destilação a vapor (CANTARELLA; TRIVELIN, 2001). Depois de cada lixiviação foi feita aplicação de solução nutritiva sem N [CaSO₄.2H₂O 0,002 mol L⁻¹; MgSO₄ 7H₂O 0,002 mol L⁻¹; Ca(H₂PO₄)₂.H₂O 0,005 mol L⁻¹ e K₂SO₄ 0,0025 mol L⁻¹]. O excesso de solução foi retirado aplicando vácuo de 10 cm de Hg (YAGI et al., 2009).

Os teores de N-inorgânico (N-NH₄⁺ + N-NO₃⁻) foram expressos em base seca (mg kg⁻¹ de solo) e os dados foram ajustados à equação de regressão exponencial de cinética de primeira ordem (STANFORD; SMITH, 1972):

$$N_m = N_0(1 - e^{-kt}),$$

Em que:

N_m = N-inorgânico mineralizado (mg kg⁻¹) no tempo t (dias);

N_0 = N-potencialmente mineralizável (mg kg⁻¹), e

k = constante de mineralização (dia^{-1}).

Métodos químicos: As avaliações de C e N foram feitas nas amostras de solo coletadas após a colheita do milho, safras 2014/2015 e 2015/2016. O C e o N total foram determinados em analisador elementar (LECO® CN 628). O N orgânico mineralizável foi obtido empregando os extratores CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e KCl 2 mol L^{-1} , todos com aquecimento. Além dos extratores salinos foram avaliados procedimentos de hidrólise alcalina, empregando os métodos ISNT e destilação a vapor direta. A descrição dos procedimentos está a seguir.

a) CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ a quente (BRAOS et al., 2016): Amostras de 4 cm^3 de solo foram transferidas para tubos de digestão, aos quais foram adicionados 30 mL de solução de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Os tubos foram tampados com rolhas de borracha fixadas com fita adesiva e a suspensão foi aquecida por 16 horas, em bloco de aquecimento preaquecido a 80°C . Após o período de aquecimento, a suspensão foi resfriada e alíquota de 10 mL do sobrenadante contendo o N-NH_4^+ hidrolisado foi usada na destilação, usando MgO como alcalinizante e seguindo os procedimentos descritos em Cantarella e Trivelin (2001).

b) $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ a quente: os mesmos procedimentos descritos em **a**, para o extrator CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, foram empregados com solução de $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.

c) KCl 2 mol L^{-1} a quente (GIANELLO; BREMNER, 1986): A extração foi feita em tubos de digestão, para os quais foram transferidos $2,5 \text{ cm}^3$ de solo e 20 mL de solução de KCl 2 mol L^{-1} . Durante o aquecimento em bloco digestor a 100°C por 4 horas, os tubos foram mantidos tampados com rolhas de borracha fixadas com fita adesiva. Após o aquecimento, os tubos contendo as amostras foram resfriados em água corrente, à suspensão foi adicionado 0,2 g de MgO com medida calibrada para conversão de N-NH_4^+ a N-NH_3 , e a amostra foi destilada de acordo com os procedimentos de Cantarella e Trivelin (2001).

d) Método de Illinois (N-ISNT) (KHAN; MULVANEY; HOEFT, 2001): Um cm^3 de solo foi transferido para recipiente com tampa de fechamento hermético e capacidade para 473 mL (Mason jar). Um béquer com capacidade para 50 mL

contendo 5 mL de solução de H_3BO_3 20 g L^{-1} foi colocado no interior do recipiente substituindo a placa de petri recomendada no método original. O béquer foi preso à tampa do recipiente com auxílio de um anel de plástico e um parafuso. Este sistema foi usado para manter o béquer suspenso no interior do recipiente quando ele é fechado. Para o recipiente contendo o solo foram transferidos 10 mL de solução de NaOH 2 mol L^{-1} e, em seguida, o recipiente foi tampado e colocado em banho-maria a 48-50°C por cinco horas. O aquecimento em banho foi utilizado, substituindo o aquecimento em chapa aquecedora recomendado pelos autores do método, porque há menor variação na temperatura. Ao término do aquecimento, o béquer contendo solução de H_3BO_3 foi retirado, a solução foi diluída com 5 mL de água desionizada e titulada com solução padronizada de H_2SO_4 0,02 mol L^{-1} para determinação do N orgânico potencialmente disponível (N-NH_4^+ + N-aminoaçúcares).

e) Destilação a vapor direta (ROBERTS et al., 2009): Um grama de solo foi transferido para tubo de vidro com 50 mm de diâmetro interno e 250 mm de altura (tubo macro), o qual foi adaptado ao destilador. Em seguida, foi feita adição de 10 mL de solução de NaOH 10 mol L^{-1} . A mistura foi submetida à destilação até obtenção de 35-40 mL do destilado, que foi recolhido em 10 mL de solução de H_3BO_3 20 g L^{-1} . O N-NH_4^+ foi quantificado por titulação do destilado com solução de H_2SO_4 0,0055 mol L^{-1} .

Em todos os procedimentos, a quantificação do N potencialmente mineralizável foi feita com titulador automático e, por isso, na solução de ácido bórico não foram usados indicadores.

3.6 Forma de análise dos resultados

Os dados obtidos, N absorvido pelo milho, N total, N mineralizado acumulado aos 210 dias (N_{mac}) obtido no ensaio de incubação, N-KCl, N- CaCl_2 , N-Fosfato, N-ISNT e N-DVD, foram submetidos à análise de variância para verificação dos efeitos das plantas de cobertura e das doses de N. Nesta análise foi considerado delineamento em parcelas subdivididas, com plantas de cobertura como tratamentos principais e doses de N como tratamentos secundários, em delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey

a 5% de probabilidade. As variáveis que apresentaram significância para o tratamento secundário (dose de N) foram submetidas a análise de regressão polinomial. O software utilizado foi o AgroEstat (BARBOSA; MALDONADO JR;2015).

Para estudo da eficiência dos métodos químicos, o N orgânico mineralizável obtido em cada caso foi correlacionado com o N potencialmente mineralizável (N_0) e com o N absorvido pelo milho (N_{abs}).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Medidas de referência de N disponível: N_{abs} , N_0 e N_{mac}

O N absorvido e acumulado pelo milho no final do ciclo da cultura variou em função dos tratamentos na safra 2015/2016, e na safra seguinte não houve efeito dos tratamentos (Tabela 4).

As sucessões feijão-de-porco/milho, mucuna/milho e vegetação espontânea/milho resultaram em maior quantidade de N_{abs} pelo milho e, cultivado após o milheto, o milho acumulou menos N (Tabela 4). A diferença no N_{abs} pelo milho em função das plantas de cobertura, na média das doses de N, foi de apenas 18,6 kg ha⁻¹ (Tabela 4), pequena se comparada à diferença no aporte de N dos restos da vegetação que antecedeu o milho (183 kg ha⁻¹), excluindo a vegetação espontânea da média (Tabela 2).

Enquanto com o milheto e com a vegetação espontânea tem-se apenas ciclagem de N do solo, com o feijão-de-porco e a mucuna admite-se que a maior parte do N que está sendo depositado sobre o solo é derivado da fixação biológica de N₂. Apesar das diferenças e da entrada considerável de N com o cultivo das leguminosas (213 e 156 kg ha⁻¹ de N com feijão-de-porco e mucuna, respectivamente), a diferença máxima no N_{abs} nas plantas de milho não adubadas com N foi de 33 kg ha⁻¹ (Tabelas 2 e 4). Isso sugere que o aproveitamento do N derivado da planta de cobertura pela cultura do milho foi muito baixo, o que está de acordo com resultados já obtidos (SCIVITTARO et al., 2000; ARAÚJO et al., 2005; SILVA et al., 2006) e pode ser explicado pela permanência do N das espécies de cobertura na biomassa microbiana e nas formas mais estabilizadas de N,

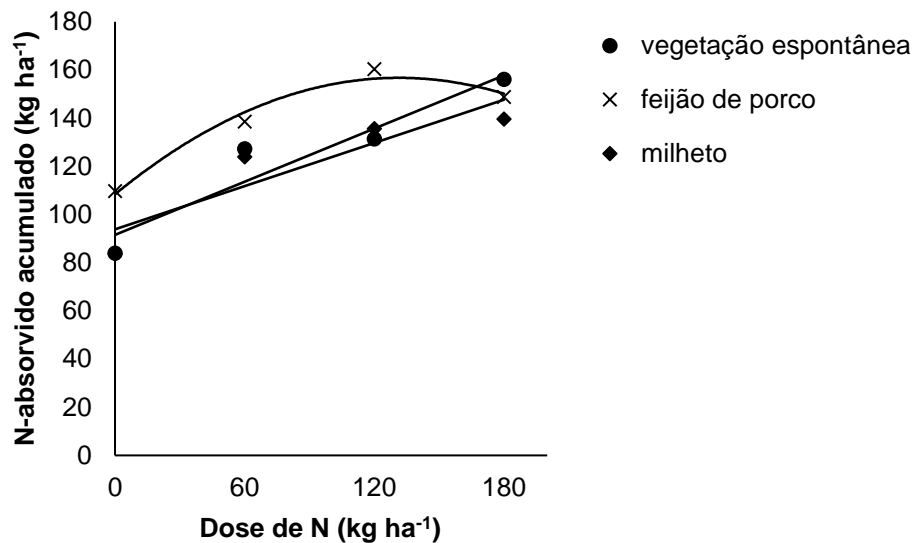
componentes da MOS, ou mineralização muito rápida, com perda de grandes quantidades de N por lixiviação.

Tabela 4. Nitrogênio acumulado pelo milho em função de plantas de cobertura e doses de nitrogênio, safras 2015/2016 e 2016/2017.

N-absorvido					
N	Vegetação espontânea	Mucuna-cinza	Feijão-de-porco	Milheto	Média
2015/2016					
kg ha ⁻¹	----- (kg ha ⁻¹)-----				
0	83,90	117,00	109,70	83,74	98,59
60	127,22	123,55	138,51	123,97	128,32
120	131,37	136,63	160,32	135,70	141,00
180	156,08	132,58	148,82	139,60	144,27
Média	121,64 ab	127,44 ab	139,34 a	120,75 b	
			Teste F	CV (%)	
Plantas de cobertura (PC)			4,90*	11,30	
Doses de N			16,31**	16,09	
PC x Doses de N			1,16 ^{NS}		
2016/2017					
0	68,81	92,78	78,69	76,06	85,89
60	72,22	80,23	81,95	78,99	77,09
120	73,88	71,35	73,92	78,99	74,53
180	81,35	80,54	93,08	88,60	85,89
Média	74,07	81,22	81,92	79,41	
			Teste F	CV (%)	
Plantas de cobertura (PC)			0,47 ^{NS}	26,05	
Doses de N			1,92 ^{NS}	17,74	
PC x Doses de N			0,80 ^{NS}		

¹Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O N_{abs} pelo milho aumentou linearmente com as doses de N em cobertura nos casos em que as espécies antecessoras foram feijão-de-porco, milho e vegetação espontânea (Figura 2).



Plantas de cobertura	Equação	Valor de F ¹	R ²
Vegetação espontânea	$y = 0,3678x + 91,539$	22,93**	0,9019
Feijão-de-porco	$y = 0,232x + 118,46$	9,12**	0,6872
Milho	$y = 0,2989x + 93,856$	15,14**	0,8207

^{1**} significativo a 1 % de probabilidade.

Figura 2. Efeito do N aplicado no N absorvido e acumulado pelo milho, para cada planta de cobertura, safra 2015/2016.

O N mineralizado do solo ($N-NH_4^+ + N-NO_3^-$), avaliado no ensaio de incubação em laboratório, apresentou alternância de ciclos de mineralização mais e menos intensa durante o período de avaliação, independentemente da planta de cobertura e da dose de N (Figuras 3A e 4A).

Nas amostras em incubação, os processos de mineralização e imobilização ocorrem de forma simultânea, e em taxas variáveis. Na fase inicial, entre 0 e 14 dias, houve mineralização de N bem definida na maior parte dos tratamentos, seguida, no intervalo de 14 a 28 dias, de diminuição da taxa de mineralização ou aumento da taxa de imobilização, em todos os tratamentos. A partir deste intervalo, os ciclos de maior/menor mineralização se sucederam, sem que houvesse coincidência de picos entre as doses de N para uma mesma planta de cobertura (Figuras 3A e 4A).

A mineralização rápida observada na fase inicial do ensaio de incubação, seguida de diminuição (Figura 3A e 4A), é observada com frequência em estudos deste tipo e é justificada pela degradação microbiana de compostos orgânicos

solúveis e de relação C/N baixa, que são de mais fácil decomposição (CARNEIRO et al., 2007; YAGI et al., 2009). A maior concentração destes compostos na fase inicial é, em parte, resultado do preparo das amostras, que foram secas e passadas em peneira de 2 mm antes de serem usadas na instalação das colunas de lixiviação, o que estimula a atividade microbiana pelo aumento da aeração e, devido à quebra de agregados, expõe compostos orgânicos nitrogenados que, em condições naturais, estariam protegidos fisicamente da ação microbiana (STANFORD; SMITH, 1972; CAMARGO et al., 1997).

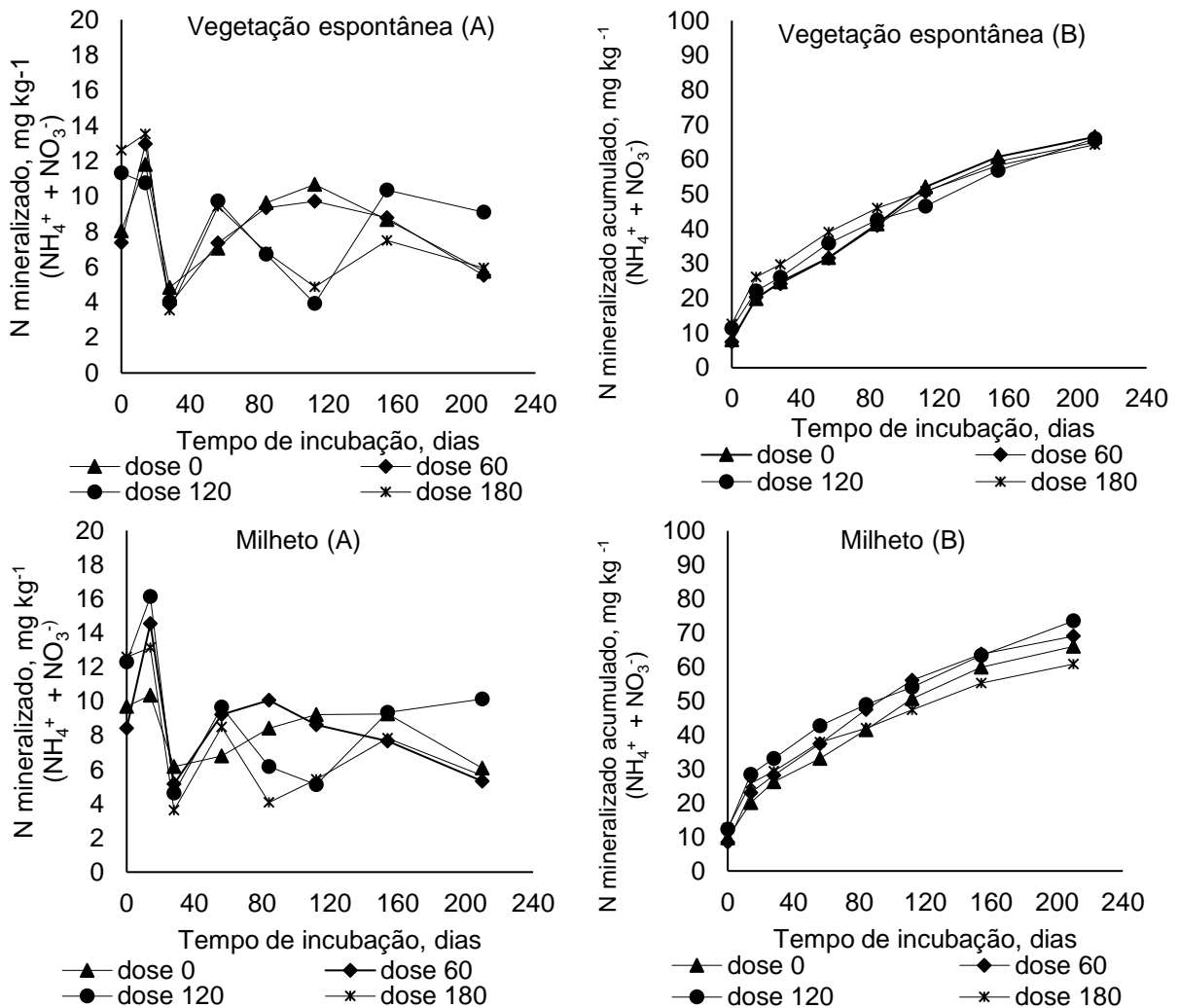


Figura 3. Teores de N mineralizado ($N\text{-NH}_4^+ + N\text{-NO}_3^-$) medidos em cada data de avaliação (A), e N mineralizado acumulado (B) medido em amostras de solo coletadas no décimo sexto ano de cultivo de milho e com vegetação espontânea em pré-safra de milho adubado com N.

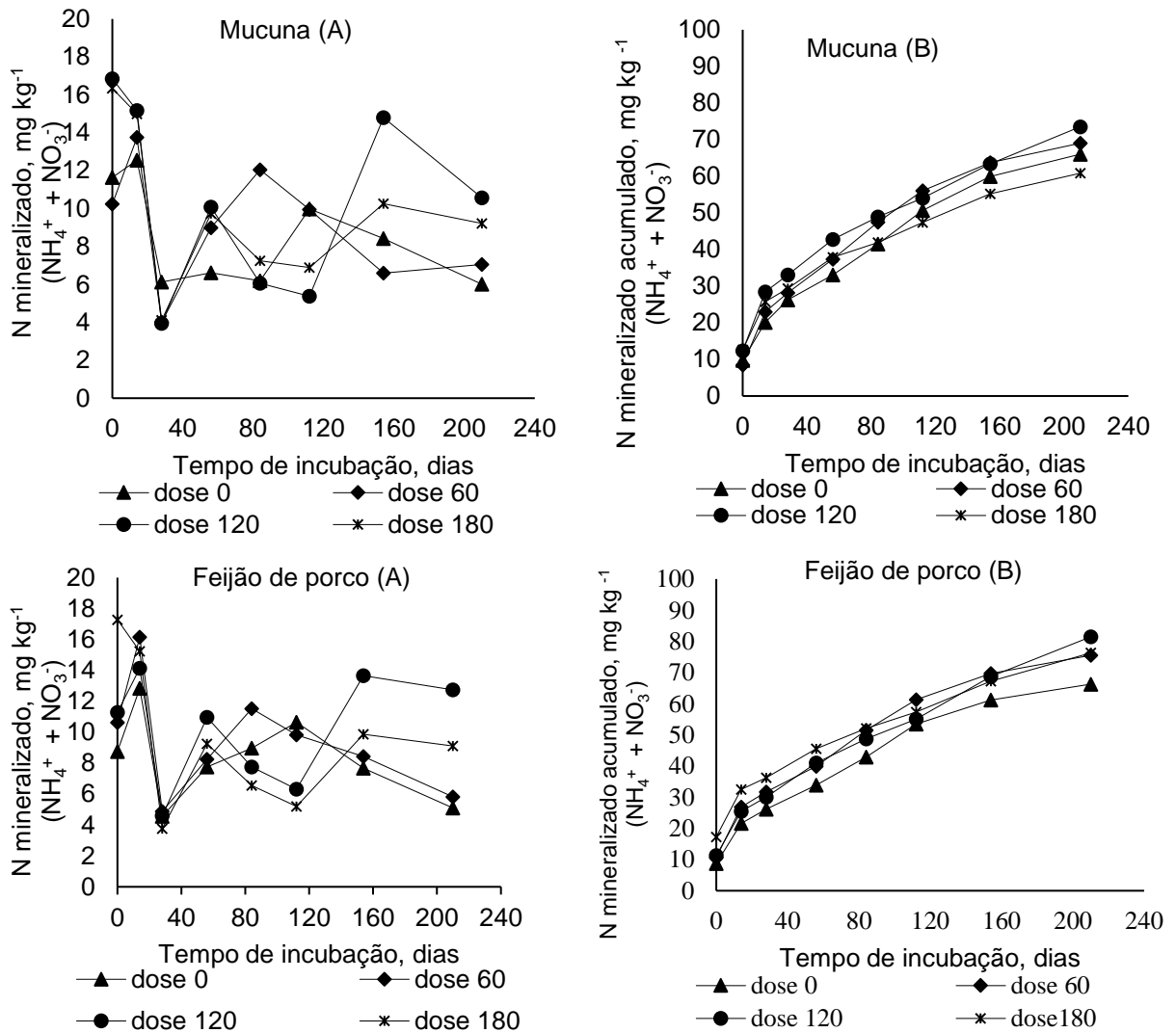


Figura 4. Teores de N mineralizado ($N\text{-NH}_4^+ + N\text{-NO}_3^-$) medidos em cada data de avaliação (A), e N mineralizado acumulado (B) medido em amostras de solo coletadas no décimo sexto ano de cultivo de mucuna e feijão-de-porco em pré-safra de milho adubado com N.

A alternância de períodos de maior e menor mineralização (Figuras 3A e 4A) pode ser explicada pela grande quantidade de compostos orgânicos ricos em N e de mineralização fácil na fase inicial da incubação, o que favorece o aumento da população microbiana. Com o aumento da biomassa microbiana, aumenta a taxa de imobilização de N e, quando ocorre esgotamento dos nutrientes disponíveis no material em decomposição, os microrganismos morrem e tem início um novo ciclo, com mineralização do conteúdo celular, liberação e aumento do N disponível, que

permite o aumento da biomassa e da taxa de imobilização (AZEEZ; VAN AVERBEKE, 2010).

O N_0 , em todas as combinações avaliadas (plantas de cobertura x doses de N), foi ajustado à equação de regressão exponencial de cinética de primeira ordem proposta por Stanford e Smith (1972), com R^2 variando de 0,91** a 0,97** (Tabela 5 e Figuras 3B e 4B).

O N potencialmente mineralizável (N_0) variou pouco entre tratamentos, mas foi menor com a aplicação de 180 kg ha⁻¹ de N nas áreas com vegetação espontânea e milho (Tabelas 5 e 6). O aumento das doses de N combinado com vegetação espontânea e milho levou ao aumento da taxa de mineralização, parâmetro k da equação (quanto maior o valor de k, mais rápida é a mineralização) (Tabela 5). Com as leguminosas de cobertura o efeito das doses de N não ficou bem definido, mas as maiores taxas foram obtidas com aplicação de 180 kg ha⁻¹ (Tabela 5 e Figura 5).

Tabela 5. Nitrogênio potencialmente mineralizável (N_0), constante de mineralização (k) e coeficiente de determinação (R^2) obtidos a partir de ensaio de incubação de amostras de solo cultivadas com plantas de cobertura em pré-safra de milho adubado com N em doses variáveis.

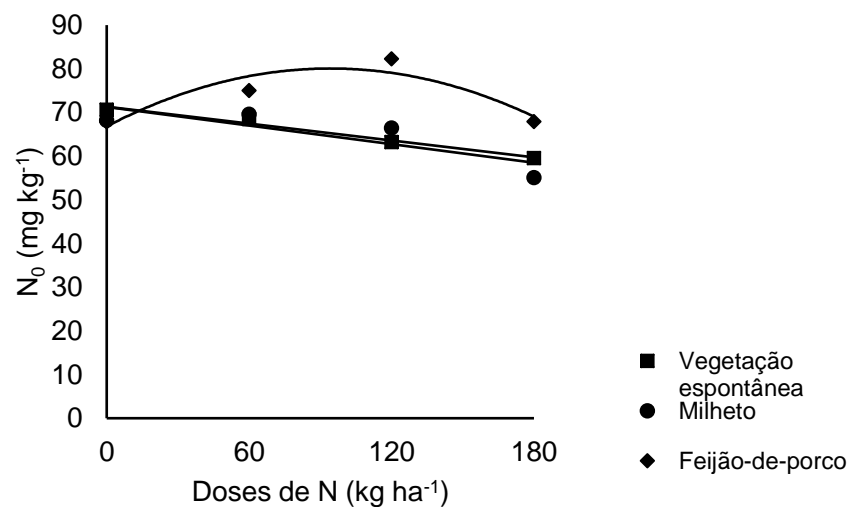
Plantas de cobertura	Doses de N kg ha ⁻¹	N_0 mg kg ⁻¹	k dia ⁻¹	R^2
Vegetação espontânea	0	70,41	0,0122	0,97**
	60	67,97	0,0127	0,96**
	120	63,14	0,0155	0,94**
	180	59,33	0,0225	0,94**
Mucuna-cinza	0	65,20	0,0171	0,94**
	60	73,44	0,0148	0,96**
	120	76,26	0,0180	0,91**
	180	72,37	0,0201	0,93**
Feijão-de-porco	0	67,84	0,0142	0,96**
	60	74,93	0,0163	0,96**
	120	81,57	0,0126	0,94**
	180	67,86	0,0241	0,92**
Milheto	0	67,73	0,0134	0,96**
	60	68,93	0,0160	0,97**
	120	66,45	0,0207	0,93**
	180	54,98	0,0245	0,93**

** significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 6. Nitrogênio potencialmente mineralizável (N_0) obtido no ensaio de incubação, em função de plantas de cobertura e doses de nitrogênio, safra 2015/2016.

Doses de N kg ha ⁻¹	Vegetação espontânea	Mucuna-cinza	Feijão-de-porco	Milheto	Média
0	70,68	65,69	67,90	68,26	68,13ab
60	68,57	73,64	75,07	69,64	71,73 a
120	63,27	76,42	82,32	66,49	72,12 a
180	59,57	72,39	67,97	55,13	63,77b
Média	65,51 a	72,04 a	73,31 a	64,88 a	
			Teste F	CV (%)	
			Plantas de cobertura (PC)	4,42*	
			Doses de N	4,84**	12,02
			PC x Doses de N	2,06 ^{NS}	10,24

¹Médias seguidas não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Plantas de cobertura	Equação	Valor de F ¹	R ²
Vegetação espontânea	$y = -0,0644x + 71,317$	6,00*	0,98
Feijão-de-porco	$y = -0,0015x^2 + 0,2814x + 66,816$	7,26*	0,83
Milheto	$y = -0,0709x + 71,261$	9,29*	0,69

¹* significativo a 5%.

Figura 5. Efeito do N aplicado no N potencialmente mineralizável acumulado aos 210 dias de incubação, para cada planta de cobertura.

A aplicação do adubo nitrogenado no milho cultivado após a vegetação espontânea e o milheto levou a um decréscimo linear no N_0 (Figura 5). Com o cultivo de feijão-de-porco antecedendo o milho, a aplicação de N levou a efeito quadrático, sendo a dose estimada de 94 kg ha^{-1} de N a que resultou no maior N_0 neste caso (Figura 5).

Houve diferença no N_{mac} aos 210 dias de incubação em função das plantas de cobertura e das doses de N (Tabela 7), o que sugere que a qualidade da matéria orgânica que está sendo formada em cada situação é diferente, uma vez que a composição bioquímica das plantas é diferente (Tabelas 2 e 3). A mucuna-cinza, que resultou em maior teor de N_{mac} , é também a espécie com maiores concentrações de N, e a vegetação espontânea, com menor concentração de N, foi a que resultou no menor teor de N_{mac} (Tabelas 2 e 7). Em estudo realizado na Índia com cultivo de leguminosas de cobertura, os pesquisadores também constataram que o N mineralizado acumulado variou em função do tipo de cobertura (DINESH et al., 2001).

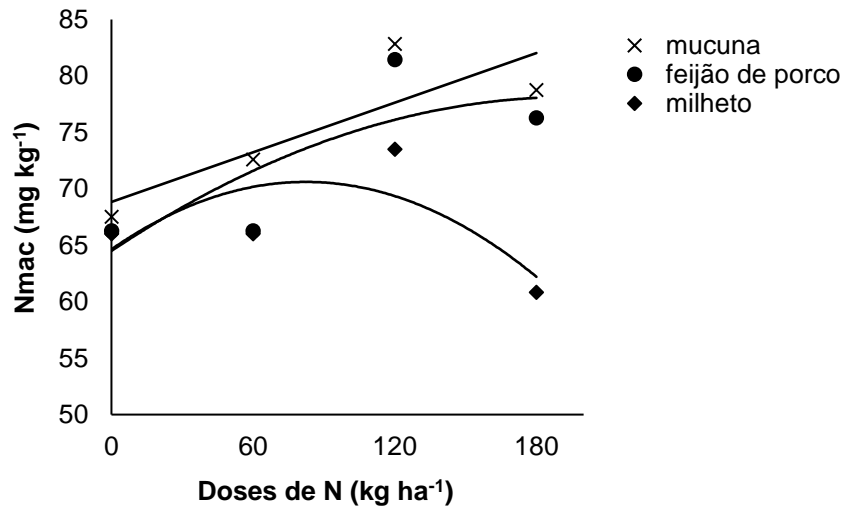
Tabela 7. Nitrogênio mineralizado acumulado aos 210 dias de incubação, em função de plantas de cobertura e doses de nitrogênio, safra 2015/2016.

Doses de N kg ha^{-1}	Vegetação espontânea	Mucuna-cinza	Feijão-de-porco	Milheto	Média
----- $N_{\text{mac}}(\text{mg kg}^{-1})$ -----					
0	66,48	67,52	66,27	66,02	66,57
60	64,91	72,61	66,27	66,02	70,51
120	65,95	82,83	81,44	73,51	75,93
180	64,23	78,77	76,28	60,82	70,02
Média	65,39 b	75,44 a	74,87 ab	67,34 ab	
			Teste F	CV (%)	
Plantas de cobertura (PC)			5,64*	12,24	
Doses de N			5,71**	9,15	
PC x Doses de N			1,74 ^{NS}		

¹Médias seguidas não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A adubação com N no milho cultivado após mucuna resultou em aumento linear no N_{mac} aos 210 dias de incubação, o que sugere que a relação C/N da matéria orgânica formada a partir desta espécie é menor. Nos tratamentos com

feijão-de-porco e milheto, o efeito no N_{mac} foi quadrático, com máximos estimados em 120 e 81 $kg\ ha^{-1}$ de N para feijão-de-porco e milheto, respectivamente (Figura 6).



Plantas de cobertura	Equação	Valor de F^1	R^2
Mucuna	$y = 0,0733x + 68,837$	9,21**	0,7085
Feijão-de-porco	$y = -0,0010x^2 + 0,2399x + 65,8797$	4,94*	0,9745
Milheto	$y = -0,0011x^2 + 0,1776x + 65,0869$	5,86*	0,7954

**e* significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente.

Figura 6. Efeito do N aplicado no N mineralizado acumulado aos 210 dias de incubação, para cada planta de cobertura.

4.2 Carbono total e nitrogênio total do solo

O C total e o N total do solo na camada de 0 a 20 cm não variaram em função de doses de N e de plantas de cobertura, no décimo sexto ano de aplicação dos tratamentos (Tabelas 8 e 9). O C total é o constituinte principal da MOS, que se forma a partir dos restos culturais de parte aérea e de raízes das plantas cultivadas na área. À medida que a MOS acumula, há aumento nos teores totais de N, visto que de 3,7 a 4,15% da MO são representados pelo nitrogênio (MEURER, 2012). Assim, o cultivo de plantas de cobertura e o revolvimento mínimo do solo geram expectativa de acúmulo de C e, conseqüentemente, de N, mas este resultado pode não acontecer, como observado no presente caso e também relatado por Nascimento et al. (2003), que após 12 anos de cultivo de várias espécies de

leguminosas (crotalária, guandu, guandu-anão, calopogônio, feijão-de-porco, lablab, kudzu tropical, siratro, leucena, cunha, mucuna-preta e mucuna-cinza) concluíram que os teores de MOS mantiveram-se baixos e não refletiram efeitos dos tratamentos nas camadas de 0-10, 10-20 e 20-30 cm de profundidade.

Tabela 8. Carbono total do solo em função de plantas de cobertura e doses de nitrogênio, safra 2015/2016.

Doses de N kg ha ⁻¹	Vegetação espontânea	Mucuna-cinza	Feijão-de-porco	Milheto	Média
-----C-total (g kg ⁻¹)-----					
0	11,20	10,92	10,46	11,24	10,95
60	11,21	10,67	11,72	10,89	11,12
120	10,67	10,94	11,44	11,90	11,24
180	10,96	11,26	11,55	10,87	11,16
Média	11,01	10,98	11,29	11,23	
			Teste F ¹	CV (%)	
Plantas de cobertura (PC)			2,17 ^{NS}	4,08	
Doses de N			0,41 ^{NS}	6,71	
PC x Doses de N			1,49 ^{NS}		

^{1NS} não significativo

Tabela 9. Nitrogênio total do solo em função de plantas de cobertura e doses de nitrogênio, safra 2015/2016.

Doses de N kg ha ⁻¹	Vegetação espontânea	Mucuna-cinza	Feijão-de-porco	Milheto	Média
-----N-total (g kg ⁻¹)-----					
0	0,78	0,79	0,84	0,77	0,79
60	0,96	0,77	0,79	0,92	0,86
120	0,84	0,82	0,83	0,79	0,82
180	0,74	0,83	0,86	0,81	0,81
Média	0,83	0,80	0,83	0,82	
			Teste F ¹	CV (%)	
Plantas de cobertura (PC)			0,31 ^{NS}	11,75	
Doses de N			0,97 ^{NS}	13,92	
PC x Doses de N			1,23 ^{NS}		

^{1NS} não significativo

Na safra 2014/2015, que precedeu a coleta das amostras, a matéria seca (MS) da parte aérea das plantas variou de 4,6 a 22,3 t ha⁻¹, o que resultou em 2.042 a 10.168 kg ha⁻¹ de C e 74 a 245 kg ha⁻¹ de N (MARUYAMA, 2017). Na safra

seguinte, com base nos dados da Tabela 2, as entradas de MS, C e N foram de 1,3 a 16,6 t ha⁻¹, 570 a 7.570 kg ha⁻¹ de C e 26 a 213 kg ha⁻¹ de N. Considerando que no caso das leguminosas a maior parte do N depositado no solo é proveniente da fixação biológica, e que a avaliação feita em 2015/2016 reflete o acumulado de 16 anos, seria esperado acúmulo de C e N. A justificativa para o não aumento está na camada de solo amostrada, 0 a 20 cm. Esta camada foi utilizada para ter maior representatividade em relação ao volume de solo explorado pelas raízes do milho, uma vez que o N_{abs} é, no presente experimento, a principal variável de referência no estudo dos métodos.

No entanto, em áreas em plantio direto, matéria orgânica e N acumulam nos primeiros centímetros (SOUZA; MELO, 2000; RANGEL et al., 2008), por causa da deposição superficial de grande quantidade de resíduos e da estabilização química da MO pelas ligações com minerais do solo presentes nas frações argila e silte (SIX et al., 2002). O experimento está instalado em área de Latossolo Vermelho argiloso e, deste modo, há favorecimento de acúmulo superficial. Em 2012/2013 foi feita avaliação dos teores de C na área do experimento nas camadas de 0-5, 5-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm, e foi constatado aumento do C somente na camada de 0-5 cm, com o cultivo de mucuna e feijão-de-porco. O milho, apesar de contribuir com as maiores entradas de C (Tabela 2), não resultou em aumento do C do solo, mesmo na camada mais superficial.

4.3 Nitrogênio orgânico mineralizável avaliado por métodos químicos

4.3.1 Fosfato de cálcio 0,01 mol L⁻¹

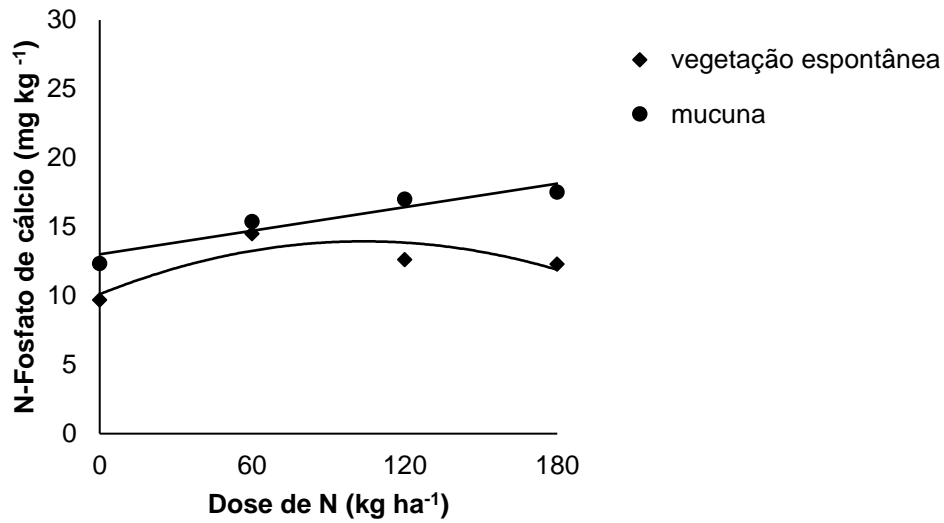
Na safra 2015/2016 não foram obtidos efeitos significativos dos tratamentos (plantas de cobertura x doses de N) no N potencialmente mineralizável extraído com solução de fosfato de cálcio (Tabela 10). Na safra 2016/2017 houve efeito significativo das plantas de cobertura e das doses de N (Tabela 10).

Tabela 10. Nitrogênio extraído do solo com solução de fosfato de cálcio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ em função de plantas de cobertura e doses de nitrogênio, safras 2015/2016 e 2016/2017.

N-fosfato de cálcio					
Doses de N	Vegetação espontânea	Mucuna	Feijão-de-porco	Milheto	Média
2015/2016					
kg ha ⁻¹	-----mg kg ⁻¹ -----				
0	9,74	12,24	12,14	14,72	12,21
60	12,69	13,62	15,81	11,72	13,46
120	14,50	12,13	12,53	14,14	13,32
180	11,81	11,20	12,74	13,47	12,31
Média	12,19	12,30	13,31	13,51	
			Teste F	CV (%)	
			Plantas de cobertura (PC)	1,29 ^{NS}	18,69
			Doses de N	1,21 ^{NS}	18,64
			PC x Doses de N	1,80 ^{NS}	
2016/2017					
0	9,70	12,36	9,18	9,06	10,08
60	14,50	15,40	12,76	7,97	12,66
120	12,62	17,01	10,68	11,09	12,85
180	12,30	17,52	11,89	9,00	12,68
Média	12,28 b	15,57 a	11,13 bc	9,28 c	
			Teste F	CV (%)	
			Plantas de cobertura (PC)	32,37 ^{**}	15,41
			Doses de N	9,55 ^{**}	14,27
			PC x Doses de N	2,85 [*]	

¹Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As parcelas cultivadas com mucuna-cinza foram as que apresentaram os maiores teores de N-fosfato de cálcio, e as parcelas com feijão-de-porco e milho apresentaram os menores teores (Tabela 10). A diferença do teor de N-fosfato entre os tratamentos (mucuna e milho) foi de $6,29 \text{ mg kg}^{-1}$ de N, na média das doses de N. Não houve efeito da aplicação de N no teor de N-fosfato de cálcio nas parcelas cultivadas com milho e feijão-de-porco. Nas parcelas com vegetação espontânea ocorreu efeito quadrático, sendo o maior teor de N-fosfato obtido com a dose estimada de 123 kg ha^{-1} de N. Quando a planta de cobertura foi a mucuna-cinza houve efeito linear das doses de N no N orgânico potencialmente mineralizável extraído com solução de fosfato de cálcio (Figura 7).



Plantas de cobertura	Equação	Valor de F ¹	R ²
Vegetação espontânea	$y = 10,112 + 0,0739x - 0,0004x^2$	8,87**	0,7099
Mucuna-cinza	$y = 13,009 + 0,0285x$	19,65**	0,9009

** significativo a 1 % de probabilidade.

Figura 7. Efeito do N aplicado no nitrogênio extraído com solução de fosfato de cálcio, para cada planta de cobertura.

4.3.2 Cloreto de cálcio 0,01 mol L⁻¹

Houve efeito das plantas de cobertura, das doses de N e da interação dos tratamentos no N orgânico mineralizável extraído com solução de cloreto de cálcio das amostras coletadas nos anos agrícolas 2015/2016 e 2016/2017 (Tabela 11).

Na safra 2015/2016, nas parcelas cultivadas com feijão-de-porco, o teor de N-CaCl₂ foi maior, enquanto que nas parcelas com milho os teores foram menores (Tabela 11). Na média das doses de N houve aumento de 3,18 mg kg⁻¹ de N-CaCl₂ com o cultivo de feijão-de-porco em relação ao milho (Tabela 11).

A aplicação de N em todas as parcelas resultou em efeito quadrático nos teores de N orgânico mineralizável extraído com CaCl₂ (Figura 8). Nas parcelas com feijão-de-porco o maior teor foi obtido com a dose estimada de 77 kg ha⁻¹ de N. Os menores teores foram obtidos com as doses estimadas de 124, 102 e 125 kg ha⁻¹ de N, para vegetação espontânea, mucuna e milho, respectivamente.

Tabela 11. Nitrogênio extraído com solução de cloreto de cálcio 0,01 mol L⁻¹ em função de plantas de cobertura e doses de nitrogênio, safras 2015/2016 e 2016/2017.

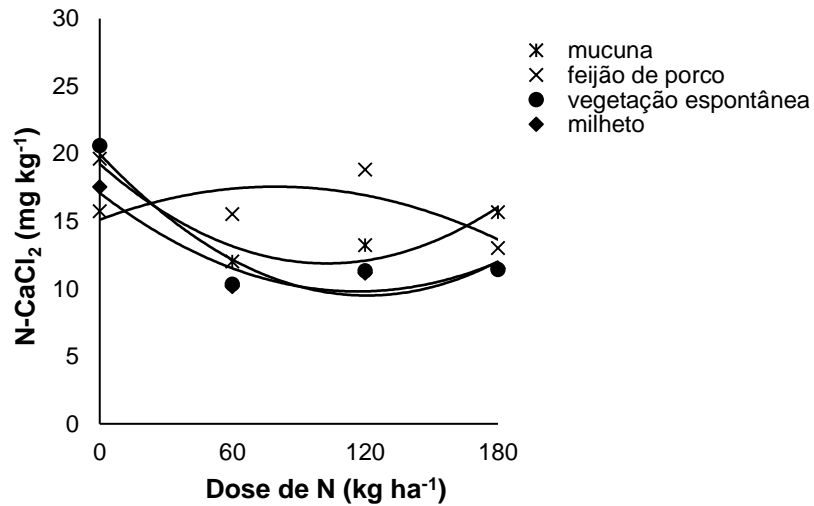
N-CaCl₂					
Doses de N	Vegetação espontânea	Mucuna	Feijão-de-porco	Milheto	Média
2015/2016					
kg ha ⁻¹	----- (mg kg ⁻¹)-----				
0	20,58	19,61	15,74	17,53	18,36
60	10,32	12,01	15,51	10,17	12,00
120	11,33	13,22	18,82	11,15	13,63
180	11,41	15,67	13,01	11,52	12,90
Média	13,41 bc	15,13 ab	15,77 a	12,59 c	
			Teste F	CV (%)	
			Plantas de cobertura (PC)	13,30**	11,38
			Doses de N	34,59**	13,57
			PC x Doses de N	6,76**	
2016/2017					
0	14,03	11,81	8,58	12,88	11,82
60	11,74	12,50	10,43	16,02	12,67
120	11,55	15,17	9,88	20,98	14,40
180	14,22	15,17	9,81	18,49	14,42
Média	12,89 b	13,66 b	9,68 c	17,09 a	
			Teste F	CV (%)	
			Plantas de cobertura (PC)	42,68**	13,99
			Doses de N	5,75**	16,21
			PC x Doses de N	3,16**	

¹Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na safra 2016/2017, nas parcelas cultivadas com feijão-de-porco, o teor de N-CaCl₂ foi menor, enquanto que nas parcelas com milho os teores foram maiores, comportamento oposto ao que ocorreu na safra anterior. Na média das doses de N houve aumento de 7,41 mg kg⁻¹ de N-CaCl₂ com o cultivo de milho em relação ao de feijão-de-porco (Tabela 11).

A aplicação de N nas parcelas com vegetação espontânea e milho resultou em ajuste quadrático nos teores de N potencialmente mineralizável extraído com CaCl₂ na safra 2016/2017 (Figura 9). O maior teor foi obtido com a dose estimada de 133 kg ha⁻¹ para milho e o menor teor com a dose estimada de 102 kg ha⁻¹ para vegetação espontânea. Nas parcelas cultivadas com mucuna, os dados ajustaram

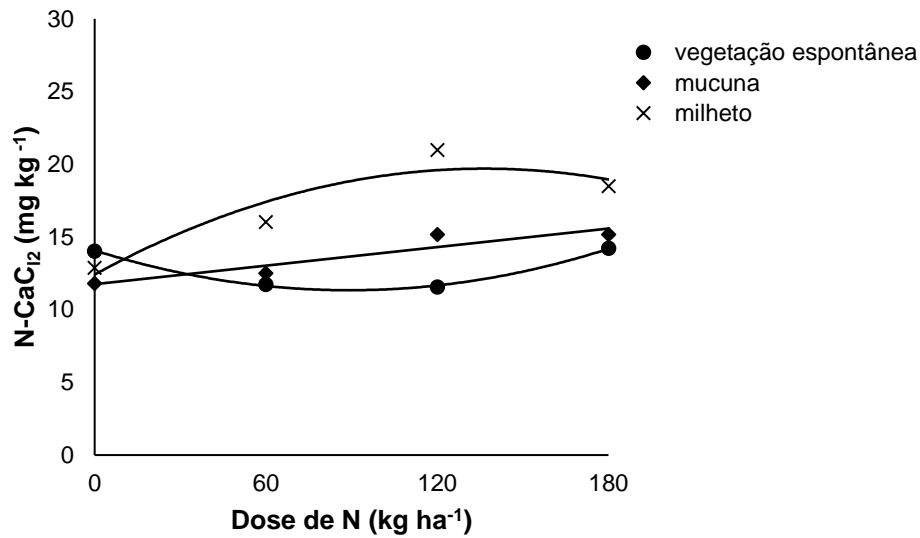
ao modelo linear crescente (Figura 9). Nas parcelas cultivadas com feijão-de-porco não houve efeito da aplicação de N em cobertura.



Plantas de cobertura	Equação	Valor de F ¹	R ²
Vegetação espontânea	$y = 19,9677 - 0,1734x + 0,0007x^2$	28,70**	0,8926
Mucuna-cinza	$y = 19,2337 - 0,1433x + 0,0007x^2$	27,12**	0,9150
Feijão-de-porco	$y = 15,1127 + 0,06156x - 0,0004x^2$	8,35**	0,5293
Milho	$y = 17,0792 - 0,1249x + 0,0005x^2$	15,99**	0,8798

^{1**} significativo a 1 % de probabilidade.

Figura 8. Efeito do N aplicado no nitrogênio extraído com solução de cloreto de cálcio, para cada planta de cobertura, safra 2015/2016.



Plantas de cobertura	Equação	Valor de F ¹	R ²
Vegetação espontânea	$y = 14,0707 - 0,0614x + 0,0003x^2$	5,27*	0,9953
Mucuna	$y = 11,7495 + 0,0213x$	6,97*	0,8713
Milho	$y = 12,4159 + 0,1067x - 0,0004x^2$	6,78*	0,8803

¹ * significativo a 5 % de probabilidade.

Figura 9. Efeito do N aplicado no nitrogênio extraído com solução de cloreto de cálcio, para cada planta de cobertura, safra 2016/2017.

4.3.3 Cloreto de potássio 2 mol L⁻¹

O N orgânico mineralizável extraído do solo com solução de KCl a quente não variou de forma significativa em função das plantas de cobertura e das doses de N na safra 2015/2016. Na safra 2016/2017 foi observado efeito das plantas de cobertura e das doses de N. Os teores de N-KCl variaram entre 12,48 a 14,58 mg kg⁻¹ e a mucuna-cinza foi a planta de cobertura que resultou nos maiores teores de N-KCl, enquanto nas parcelas com vegetação espontânea os teores foram os menores (Tabela 12).

Nas parcelas com milho, a aplicação de N em cobertura resultou em ajuste quadrático dos teores de N-KCl. Os maiores teores foram obtidos com a dose estimada de 118 kg ha⁻¹. Quando a planta de cobertura cultivada foi a mucuna,

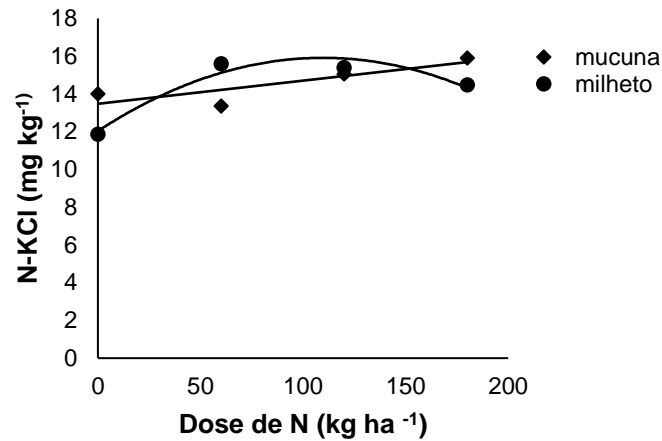
houve ajuste dos dados ao modelo linear. Com vegetação espontânea e feijão-de-porco não houve efeito da adubação nitrogenada (Figura 10).

O método do KCl, nos estudos de seleção de métodos, normalmente se mostra eficiente na avaliação do N disponível (JALIL et al., 1996; YAGI et al., 2009; SCHOMBERG et al., 2009; BRAOS et al., 2016), embora também existam situações em que os resultados não tenham sido satisfatórios (NYIARANEZA et al., 2012; MARIANO et al., 2017). As quantidades extraídas pelo método foram pequenas (2 % do N total do solo) se comparadas aos outros extratores que serão comentados a seguir, e este fator, embora não seja determinante da qualidade do método, ajuda a discriminar áreas com maior ou menor potencial de resposta a adubação, sobretudo em sistemas em que a eficiência de recuperação do nutriente das plantas de cobertura e do N fertilizante aplicado foi baixa, como já comentado.

Tabela 12. Nitrogênio extraído do solo com solução de cloreto de potássio 2 mol L⁻¹ em função de plantas de cobertura e doses de nitrogênio, safras 2015/2016 e 2016/2017.

N-KCl					
Doses de N	Vegetação espontânea	Mucuna	Feijão-de-porco	Milheto	Média
2015/2016					
kg há ⁻¹	----- (mg kg ⁻¹) -----				
0	18,28	19,15	17,27	16,77	17,87
60	17,25	14,54	21,43	16,77	17,50
120	15,67	20,64	18,18	17,42	17,98
180	17,64	19,03	21,04	17,78	18,87
Média	17,21	18,34	19,48	17,19	
			Teste F	CV (%)	
Plantas de cobertura (PC)			2,96 ^{NS}	14,07	
Doses de N			0,47 ^{NS}	18,74	
PC x Doses de N			1,32 ^{NS}		
2016/2017					
0	12,44	14,01	11,95	11,87	12,57
60	13,30	13,36	13,52	15,60	13,94
120	13,17	15,05	14,57	15,39	14,55
180	11,01	15,90	13,27	14,48	13,67
Média	12,48 c	14,58 a	13,33 bc	14,33 ab	
			Teste F	CV (%)	
Plantas de cobertura (PC)			17,33 ^{**}	6,78	
Doses de N			4,53 ^{**}	11,39	
PC x Doses de N			2,04 ^{NS}		

¹Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Plantas de cobertura	Equação	Valor de F ¹	R ²
Mucuna	$y = 13,4752 + 0,0123x$	4,47*	0,7165
Milheto	$y = 12,0286 + 0,0708x - 0,0003x^2$	8,88**	0,9412

^{1*} e ^{**} significativo a 1 e 5 % de probabilidade, respectivamente

Figura 10. Efeito do N aplicado no nitrogênio extraído com solução de cloreto de potássio, para cada planta de cobertura, safra 2016/2017.

4.3.4 Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT)

Na safra 2015/2016 o N-ISNT variou apenas com as doses de N, enquanto na safra seguinte houve efeito das plantas de cobertura e das doses de N (Tabela 13).

O N-ISNT diminuiu de forma linear na combinação adubação nitrogenada e cultivo de feijão-de-porco em pré-safra (Figura 11).

Na safra 2016/2017, na média das doses de N, as leguminosas se sobressaíram em relação à gramínea e à vegetação espontânea, com maiores teores de N-ISNT. Nas parcelas com vegetação espontânea os teores foram menores (Tabela 13).

Os teores de N-ISNT apresentaram ajuste quadrático em função das doses de N, com todas as plantas de cobertura. Os maiores teores foram obtidos com as doses estimadas de 136 e 85 kg ha⁻¹ de N, para feijão-de-porco e milho, respectivamente, enquanto que nas parcelas com vegetação espontânea e mucuna, com as doses estimadas de 130 e 81 kg ha⁻¹ de N, foram obtidos os menores teores de N-ISNT (Figura 12).

Tabela 13. N-ISNT em função de plantas de cobertura e doses de nitrogênio, safras 2015/2016 e 2016/2017.

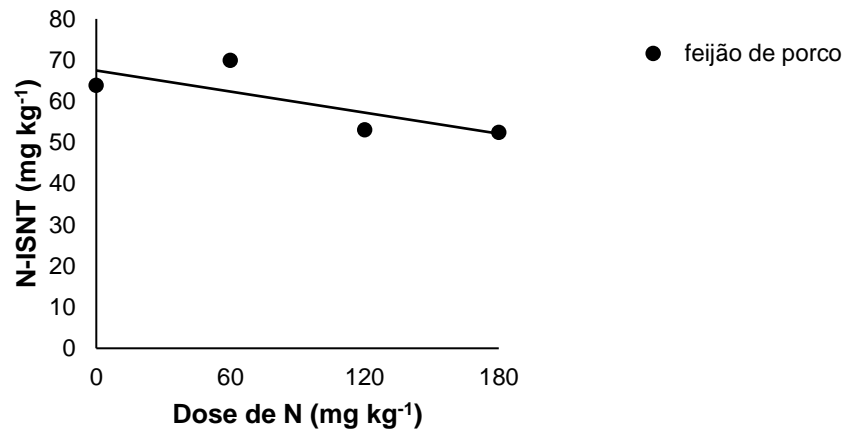
N-ISNT					
Doses de N	Vegetação espontânea	Mucuna	Feijão-de-porco	Milheto	Média
2015/2016					
kg ha ⁻¹	----- (mg kg ⁻¹) -----				
0	50,76	62,97	63,81	53,20	57,69
60	64,02	67,52	69,93	70,78	68,07
120	59,79	65,74	53,02	51,78	57,58
180	53,64	55,08	52,40	47,86	52,25
Média	57,05	62,83	59,79	55,91	
			Teste F	CV (%)	
Plantas de cobertura (PC)			2,56 ^{NS}	13,12	
Doses de N			5,74 ^{**}	18,77	
PC x Doses de N			0,73 ^{NS}		
2016/2017					
0	105,71	116,70	91,18	82,47	99,02
60	75,64	100,53	115,31	126,53	104,50
120	84,01	100,29	132,76	126,73	110,95
180	76,84	125,42	124,72	68,34	98,83
Média	85,55 c	110,74 a	115,99 a	101,02 b	
			Teste F	CV (%)	
Plantas de cobertura (PC)			76,69 ^{**}	5,91	
Doses de N			4,58 ^{**}	10,47	
PC x Doses de N			16,54 ^{**}		

¹Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Com o ISNT são avaliadas as formas de NH₄⁺ hidrolisável+N-aminoácúcares e, de acordo com Mulvaney et al. (2001), concentrações elevadas de N-aminoácúcares no solo diminuem a necessidade de adubação nitrogenada, pois essa é a fração que controla o N-lábil do solo.

Deste modo, o uso do ISNT pode ser pensado como alternativa aos extratores salinos. Este método tem sido mais avaliado nos Estados Unidos, com resultados bons (MULVANEY et al., 2006; WILLIAMS et al., 2007) e ruins (LABOSKI et al., 2008; SPARGO et al., 2009). No Brasil, o método foi testado por Otto et al. (2013), em experimentos em campo, e Braos et al. (2016), em experimento em casa de vegetação, com bons resultados, mas Mariano et al. (2017), ao empregá-lo para avaliação da disponibilidade de N usando dados de campo, não obtiveram boas

correlações. De acordo com Laboski et al. (2008) o ISNT não é uma ferramenta útil de previsão da disponibilidade de N porque extrai uma fração constante do N total, mais do que uma fração específica do N mineralizável, uma vez que no estudo dos autores houve ausência de correlação entre N-ISNT e absorção relativa de N pelo milho usando dados de 96 avaliações de experimentos em campo. Nos Estados Unidos o método do ISNT foi calibrado para separar solos responsivos à adubação nitrogenada de solos não responsivos e, segundo Mulvaney et al. (2006) o método foi ineficiente na separação dos solos quando a soja havia sido cultivada antes de milho.



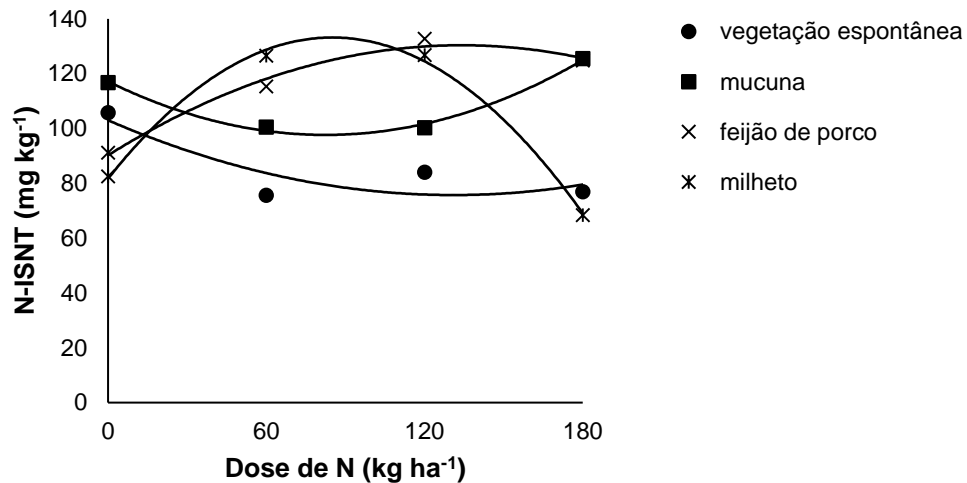
Plantas de cobertura	Equação	Valor de F ¹	R ²
Feijão-de-porco	$y = 67,4627 - 0,08522x$	4,28*	0,5957

¹significativo a 5% de probabilidade.

Figura 11. Efeito do N aplicado no N-ISNT, para cada planta de cobertura, safra 2015/2016.

Na calibração do método ISNT feita nos EUA (KHAN et al., 2001) foram consideradas responsivas à adubação nitrogenada áreas com teores de N-aminoaçúcares menores que 225 mg kg⁻¹ e não responsivos solos com teores acima de 235 mg kg⁻¹ na camada de 0-30 cm. Este critério foi proposto com base em experimentos realizados com a cultura do milho e, quando aplicado ao presente

trabalho, sugerem que há probabilidade de resposta à adubação nitrogenada, mesmo nas parcelas com cultivo de leguminosas em pré-safra do milho.



Plantas de cobertura	Equação	Valor de F ¹	R ²
Vegetação espontânea	$y = 103,0111 - 0,4167x + 0,0016x^2$	4,49*	0,7501
Mucuna	$y = 117,1757 - 0,4731x + 0,0029x^2$	14,59**	0,9905
Feijão-de-porco	$y = 90,2367 + 0,5990x - 0,0022x^2$	8,85**	0,9818
Milheto	$y = 81,7376 + 1,2102x - 0,0071x^2$	89,73**	0,9960

¹ * e ** significativo a 5 e 1 % de probabilidade, respectivamente.

Figura 12. Efeito do N aplicado no N-ISNT, para cada planta de cobertura, safra 2016/2017.

4.3.5 Destilação a vapor direta (DVD)

As plantas de cobertura e as doses de N apresentaram efeito significativo nos teores de N-DVD nas duas safras (Tabela 14). Na safra 2015/2016 os teores de N-DVD variaram de 56,78 a 128,75 mg kg⁻¹, sendo maiores nas parcelas com feijão-de-porco. As demais plantas não diferiram entre si (Tabela 14). Com vegetação espontânea e mucuna o ajuste do N-DVD em função de doses de N foi linear e com feijão-de-porco e milho, foi quadrático (Figura 13).

Na safra 2016/2017, os teores de N-DVD variaram de 47,28 a 119,73 mg kg⁻¹ e, entre as plantas de cobertura, a mucuna foi a que proporcionou o maior teor de N-DVD, que não diferiu do teor obtido com a vegetação espontânea. O menor teor de

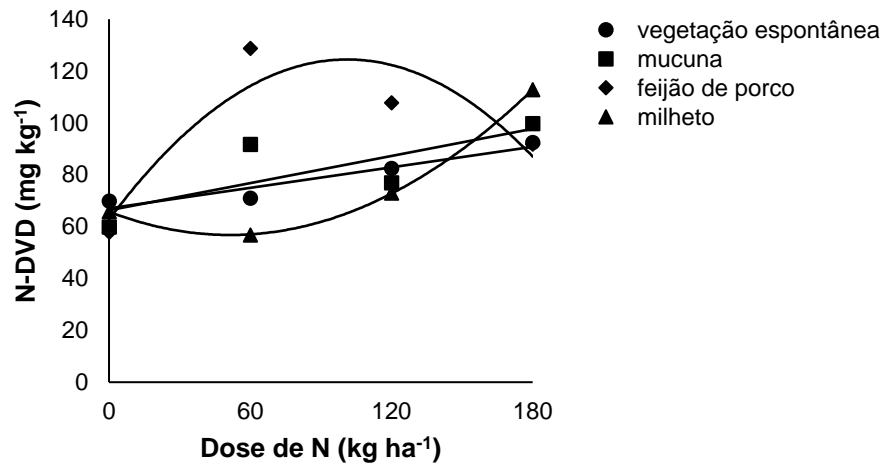
N-DVD foi determinado nas parcelas com milho. Houve aumento de 47,11 mg kg⁻¹ de N entre os tratamentos mucuna e milho (Tabela 14).

Tabela 14. N-DVD em função de plantas de cobertura e doses de nitrogênio, safras 2015/2016 e 2016/2017.

N-DVD					
Doses de N	Vegetação espontânea	Mucuna	Feijão-de-porco	Milho	Média
2015/2016					
kg ha ⁻¹	----- (g kg ⁻¹)-----				
0	69,85	59,85	57,86	65,84	63,35
60	70,98	91,67	128,75	56,78	87,04
120	82,43	76,86	107,81	72,98	85,02
180	92,40	99,70	91,88	112,77	99,19
Média	78,91 b	82,02 b	96,57 a	77,09 b	
			Teste F	CV (%)	
Plantas de cobertura (PC)			20,95**	9,25	
Doses de N			32,93**	12,42	
PC x Doses de N			12,78**		
2016/2017					
0	119,73	90,62	57,39	48,81	79,14
60	83,10	114,53	68,66	52,05	79,58
120	84,74	84,09	52,62	49,77	67,81
180	72,13	97,13	84,95	47,28	75,37
Média	89,93 a	96,59 a	65,91 b	49,48 c	
			Teste F	CV (%)	
Plantas de cobertura (PC)			90,73**	12,11	
Doses de N			8,89**	9,69	
PC x Doses de N			17,17**		

¹Médias seguidas da mesma letra, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

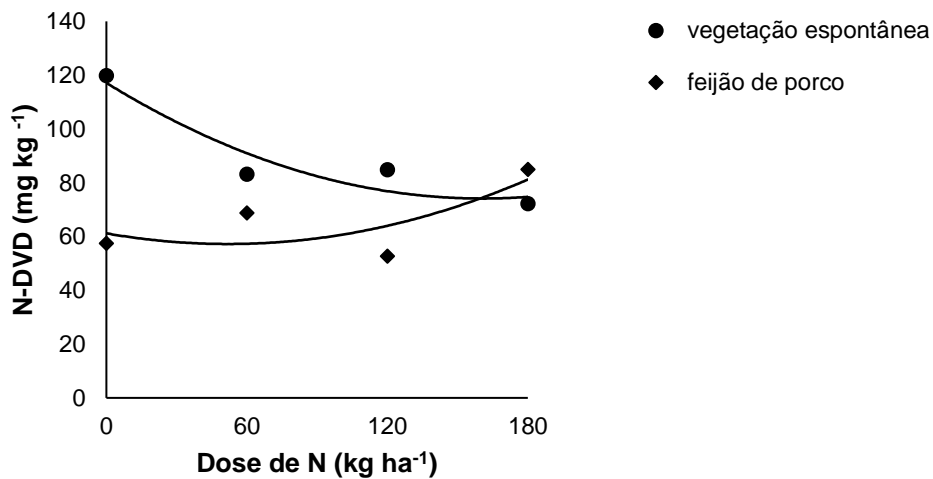
A adubação nitrogenada apresentou efeito quadrático no teor de N-DVD com a vegetação espontânea e o feijão-de-porco em pré-safra de milho, sendo que os menores teores foram obtidos com as doses estimadas de 157 kg ha⁻¹ e 51 kg ha⁻¹ de N, respectivamente. Para mucuna e milho não houve efeito significativo das doses de N (Figura 14).



Plantas de cobertura	Equação	Valor de F ¹	R ²
Vegetação espontânea	$y = 67,0510 + 0,1318x$	11,58**	0,9218
Mucuna-cinza	$y = 66,3082 + 0,1746x$	20,31**	0,5938
Feijão-de-porco	$y = 62,6992 + 1,2205x - 0,0060x^2$	69,78**	0,8252
Milheto	$y = 65,7541 - 0,3489x + 0,0034x^2$	22,09**	0,9999

^{1**} significativo a 5 % de probabilidade.

Figura 13. Efeito do N aplicado no N-DVD, para cada planta de cobertura, safra 2015/2016.



Plantas de cobertura	Equação	Valor de F ¹	R ²
Feijão-de-porco	$y = 0,0015x^2 - 0,1522x + 61,174$	8,28**	0,5376
Vegetação espontânea	$y = 0,0017x^2 - 0,5355x + 117,1$	10,79**	0,8921

^{1**} significativo a 1% de probabilidade.

Figura 14. Efeito do N aplicado no N-DVD, para cada planta de cobertura, safra 2016/2017.

O método ISNT foi também calibrado para áreas de cultivo de arroz por inundação no Estado do Arkansas-EUA, e a capacidade preditiva do método foi 20% maior do que a do ISNT para profundidades de amostragem de 0-45 e 0-60 cm (ROBERTS et al., 2011). O sucesso na calibração do método foi em parte atribuído à taxa de mineralização de N relativamente constante nas áreas de solo inundado e à diminuição das perdas de N devido ao uso de fertilizantes amoniacais e à limitação aos processos de nitrificação/desnitrificação. As transformações do N em solos aerados são muito mais dinâmicas e dificultam o processo de calibração dos métodos de análise de N orgânico mineralizável. Esta dificuldade ficou evidente no trabalho de Mariano et al. (2017), que aplicaram quinze métodos de avaliação de N mineralizável em amostras de solo de experimentos com adubação nitrogenada em cana-de-açúcar, incluindo o DVD, e concluíram sobre a ineficiência de todos na previsão do N disponível.

4.4 Seleção de método químico para avaliação do N disponível

Devido às diferenças de repostas obtidas entre N_{abs} e N_{mac} aos 210 dias, não houve correlação entre as duas variáveis, o que indica que o método de incubação em laboratório, nas condições testadas, não reflete o N_{abs} pelo milho em condições de campo. Correlação positiva entre N_{abs} e N_{mac} foi relatada por Yagi et al. (2009), com coeficiente de correlação médio de 0,72**, mas o N_{abs} foi obtido em experimento em vasos, com um conjunto de solos que apresentavam variação significativa nos teores de argila e matéria orgânica, o que favorece a correlação.

O N potencialmente mineralizável extraído com solução de fosfato de cálcio na safra 2015/2016 não correlacionou com os métodos de referência de disponibilidade de N, N_{abs} e N_{mac} (safra 2015/2016) (Tabela 15). Na safra 2016/2017 foi verificada correlação somente entre o N-fosfato e o N_{mac} (0,5231*) (Tabela 16).

A solução de $CaCl_2$ a quente não foi eficiente para predizer o potencial de mineralização do N do solo em sistema de cultivo de plantas de cobertura, uma vez que não houve correlação entre N- $CaCl_2$ e N_{abs} , N_0 e N_{mac} aos 210 dias. Contudo, em estudo realizado por Braos et al. (2016) com amostras de 17 solos do Planalto

Ocidental do Estado de São Paulo, a solução de CaCl_2 foi eficiente, com coeficiente de correlação de 0,93** com o N_{abs} pelo milho.

Tabela 15. Coeficientes de correlação (R) entre as quantidades de N mineralizadas nos métodos químicos avaliados com os teores de N absorvido pelo milho (N_0), nitrogênio mineralizado acumulado aos 210 dias de incubação (N_{mac}) e nitrogênio potencialmente mineralizável (N_0) na safra 2015/2016.

	N-fosfato	N-KCl	N- CaCl_2	N-ISNT	N-DVD
N-KCl	-0,1290 ^{NS}	-	-	-	-
N- CaCl_2	-0,0677 ^{NS}	0,2280 ^{NS}	-	-	-
N-ISNT	-0,1870 ^{NS}	0,0622 ^{NS}	-0,1058 ^{NS}	-	-
N-DVD	0,0681 ^{NS}	0,1754 ^{NS}	-0,0106 ^{NS}	-0,0238 ^{NS}	-
N_{abs}	-0,0227 ^{NS}	0,1029 ^{NS}	-0,3089 ^{NS}	0,1010 ^{NS}	0,6023*
N_0	-0,0595 ^{NS}	0,2634 ^{NS}	0,3911 ^{NS}	0,3591 ^{NS}	0,1375 ^{NS}
N_{mac}	-0,0109 ^{NS}	0,5025*	0,1665 ^{NS}	0,1579 ^{NS}	0,3661 ^{NS}

^{NS} não significativo; * significativo a 5 %.

Tabela 16. Coeficientes de correlação (R) entre as quantidades de N mineralizadas nos métodos químicos avaliados com os teores de N absorvido pelo milho (N_0), nitrogênio mineralizado acumulado aos 210 dias de incubação (N_{mac}) e nitrogênio potencialmente mineralizável (N_0) na safra 2016/2017.

	N-fosfato	N-KCl	N- CaCl_2	N-ISNT	N-DVD
N-KCl	0,1084 ^{NS}	-	-	-	-
N- CaCl_2	-0,0171 ^{NS}	0,3775**	-	-	-
N-ISNT	0,0808 ^{NS}	0,3109*	0,0501 ^{NS}	-	-
N-DVD	0,4464**	-0,0708 ^{NS}	-0,1499 ^{NS}	0,0501 ^{NS}	-
N_{abs}	0,0239 ^{NS}	-0,0305 ^{NS}	-0,0405 ^{NS}	0,1051 ^{NS}	-0,0417 ^{NS}
N_0	0,3453 ^{NS}	0,2986 ^{NS}	-0,3620 ^{NS}	0,6139*	0,2052 ^{NS}
N_{mac}	0,5231*	0,5366*	-0,0971 ^{NS}	0,7139*	0,1199 ^{NS}

^{NS} não significativo; * e ** significativo a 5 e 1 %, respectivamente.

O N extraído com solução de KCl se correlacionou apenas com o N_{mac} nas duas safras avaliadas, com coeficientes de correlação de 0,5025* e 0,5366*, safra 2015/2016 e 2016/2017, respectivamente (Tabelas 15 e 16).

Na safra 2015/2016 o comportamento do N-DVD foi semelhante ao do N- absorvido pelo milho (Tabelas 4 e 14), o que explica a correlação entre eles ($r = 0,6023^*$). Entre os métodos avaliados nas duas safras, o de DVD no ano agrícola 2015/2016 foi o único que apresentou correlação com o N absorvido pelo milho

Na safra 2016/2017 os métodos de extração ISNT, fosfato de cálcio e cloreto de potássio correlacionaram com o N_{mac} aos 210 dias de incubação, com coeficientes de correlação de $0,7139^*$; $0,5231^*$ e $0,5366^*$, respectivamente. O N_0 e o N-ISNT apresentaram correlação significativa ($r=0,6139^*$). De acordo com Mohapatra (1998) a expectativa é que apenas as formas mais lábeis do N orgânico (N-NH₄⁺ hidrolisável e N-aminoaçúcares) dos solos sejam correlacionadas com o N absorvido, pois são as formas mais facilmente mineralizáveis, que resultam em aumentos no N absorvido e na produção da cultura. Segundo St. Luce et al. (2011) os métodos químicos apresentam como principal limitação o fato de não poderem simular a liberação de N disponível que ocorre em condições de campo, mediada pelos microrganismos do solo. Partindo deste ponto de vista, nenhum método químico seria uma boa ferramenta de previsão do potencial de fornecimento de N pelo solo. Por isso, os autores sugerem o uso combinado de índices de disponibilidade de N e de dados de clima, e a identificação de uma fração específica de N orgânico que seja a principal fornecedora de N em um dado sistema.

5. CONCLUSÃO

O método da destilação a vapor direta e o N-ISNT, entre os métodos químicos avaliados, são considerados os índices de disponibilidade de N mais promissores para uso em plantio direto com cultivo de plantas de cobertura.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMADO, T. J. C.; MIELNIZUK, J.; AITA, C. Recomendação de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo, sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.26, p.241-248, 2002.

AMADO, T. J. C.; BAYER, C.; ELTZ, F. L.; BRUM, A. C. R. Potencial de culturas de cobertura em acumular carbono e nitrogênio no solo no plantio direto e a melhoria da qualidade ambiental. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.25, p.189-197, 2001.

ANDRIOLI, I.; CENTURION, J. F. Levantamento detalhado dos solos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 27 (CD-ROM);1999; Brasília, Brasil. DF. **Resumos...** Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo.

ARAÚJO, A. S. F. de; TEIXEIRA, G. M.; CAMPOS, A. X. de; SILVA, F. C.; AMBROSANO, E. J.; TRIVELIN, P. C. O. Utilização de nitrogênio pelo trigo cultivado em solo fertilizado com adubo verde (*Crotalaria juncea*) e/ou uréia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, p.284-289, 2005.

AZEEZ, J. O.; AVERBEKE, W. VAN Nitrogen mineralization potential of three animal manures applied on a Sandy clay loam soil. **Bioresource Technology**, New York, v.101, p. 5645-5651, 2010. doi:10.1016/j.biortech.2010.01.119

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JÚNIOR W. **Agroestat: sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos, versão 1,0**. Jaboticabal: FCAV, Unesp, 2015.

BOER, C. A.; ASSIS, R. L. de; SILVA, G. P.; BRAZ, A. J. B. P.; BARROSO, A. L. de L.; CARGNELUTTI FILHO, A.; PIRES, F. R. Ciclagem de nutrientes por plantas de cobertura na entressafra em um solo de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, p.1269-1276, 2007.

BRAOS, B. B.; FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P.; BRAOS, L. B. Mild and moderate extraction methods to assess potentially available soil organic nitrogen. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 40, p. 151-159, 2016.

CALONEGO, J. C.; FOLONI, J. S. S.; ROSOLEM, C. A. Lixiviação de potássio da palha de plantas de cobertura em diferentes estádios de senescência após a dessecação química. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, p.99-108, 2005.

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, 1997.

CAMPOS, F. P.; NUSSIO, C. M. B.; NUSSIO, L. G. **Método de análise de alimentos**. Piracicaba, Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz. 2004.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P. C. O. **Determinação de nitrogênio inorgânico em solo pelo método da destilação a vapor**. In: RAIJ, B VAN, ANDRADE, J. C.;

CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. ed. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas, Instituto Agronômico. p.270-276, 2001.

CARNEIRO, J. P.; BRANCO, S.; COUTINHO, J.; TRINDADE, H. Mineralização de azoto de diferentes resíduos orgânicos em incubação laboratorial de longa duração. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, v. 30, p. 159-173, 2007.

CORDOVIL, C. M. D. S.; COUTINHO, J.; GOSS, M. J.; CABRAL, F. Comparison of chemical methods for assessing potentially available organic nitrogen from organic residues applied to a sandy soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.38, p.989-1006, 2007.

CURTIN, D.; CAMPBELL, C. A. **Mineralizable nitrogen**. In: CARTER, M.R.; GREGORICH, E.G. (eds.) Soil Sampling and methods of analysis. Boca Raton, CRC Press, 2008. p. 599–606.

DINESH, R.; SURYANARAYANA, M. A.; NAIR, A. K.; GHOSHAL CHAUDHURI, S. Leguminous cover crop effects on nitrogen mineralization rates and kinetics in soils. **Journal Agronomy & Crop Science**, Berlin, v. 187, p. 161-166, 2001.

DONAGEMA, G. K.; CAMPOS, D. V. B. D. E.; CALDERANO, S. B.; TEIXEIRA, W. G.; VIANA, J. H. M. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2011. 230p.

DUETE, R. R. C.; MURAOKA, T.; SILVA, E. C. da; TRIVELIN, P. C. O.; AMBROSANO, E. J. Manejo da adubação nitrogenada e utilização do nitrogênio (15N) pelo milho em Latossolo Vermelho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p.161-171, 2008.

GIANELLO, C.; BREMNER, J. M. A simple chemical method of assessing potentially available organic nitrogen in soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 17, p. 195-214, 1986.

GIANELLO, C.; CAMARGO, F. A. O.; REICHMANN, E.; TEDESCO, M. J. Avaliação da disponibilidade do nitrogênio do solo estimada por métodos químicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 93-101, 2000.

GOERING, K. H.; VAN SOEST, P. J. **Forage fiber analysis**: apparatus, reagents, procedures and some applications. Washington: ARS-SDA, 1970.

HAYNES, R. J. Labile organic matter fraction as central components of the quality agricultural soils: an overview. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.85, p.221-268, 2005.

HOUBA, V. J. G.; NOVOZAMSKY, I.; HUIJBREGTS, A. W. M.; van der LEE, J. J. Comparison of the soil extraction by 0.01 M CaCl₂ by EUF and by some conventional extraction procedures. **Plant and Soil**, The Hague, v.96, p.433-377, 1986.

JALIL, A.; CAMPBELL, C. A.; SCHOENAU, J.; HENRY, J. L.; JAME, Y. W.; LAFOND, G. P. Assessment of two chemical extraction methods as indices of available nitrogen. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 60, p. 1954–1960, 1996. <http://dx.doi.org/10.2136/sssaj1996.03615995006000060048x>.

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.

KUHNEN, F. **Mineralização de nitrogênio de solos e de resíduo orgânico em laboratório e em campo**. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.

KRISTENSEN, H. L.; DEBOSZ, K; McCARTY, G. W. Short-term effects of tillage on mineralization of nitrogen and carbon in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v.35, p.979-986, 2003.

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.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA CABALLERO, S.S.; SANTANA, D.G. de. Influência da cultura antecessora e da adubação nitrogenada na produtividade de milho em sistema plantio direto e solo preparado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1005-1013, 2004.

MACHADO, L. A. Z.; ASSIS, P. G. G. Produção de palha e forragem por espécies anuais e perenes em sucessão à soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, p. 415-422, 2010.

MARIANO, E.; OTTO, R.; ZAQUEU, F.; MONTEZANO, H.; CANTARELLA, P.; TRIVELIN, C. O. Soil nitrogen availability indices as predictors of sugarcane nitrogen requirements. **European Journal of Agronomy**, v. 89, p. 25–37, 2017.

MARUYAMA, F. F. A. **Agregação e carbono orgânico de um latossolo cultivado por quatorze anos nos sistemas convencional e plantio direto**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Rio Paranaíba: Universidade Federal de Viçosa; 2017.

MEURER, E. J. **Fundamentos de química do solo**. 5 ed. Porto Alegre: Evangraf, 2012. 280p.

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.

MOSIER, A. R. Exchange of gaseous nitrogen compounds between agricultural systems and the atmosphere. **Plant and Soil**, The Hague, v. 228, p. 17–27, 2001.

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, A. S.; 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.

MYROLD, D.; BOTTOMLEY, P. P. Nitrogen mineralization and immobilization. In: SCHEPERSAND, J.S.; RAUN, W.R. (eds) **Nitrogen in agricultural systems**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 2008. p. 157-172.

NASCIMENTO, J. T.; SILVA, I. F.; SANTIAGO, R. D.; SILVA NETO, L. F. Efeito de leguminosas nas características químicas e matéria orgânica de um solo degradado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 7, p. 457-462, 2003.

NYIRANEZA, J.; ZIADI, N.; ZEBARTH, B. J.; SHARIFI, M.; BURTON, D. L.; DRURY, C. F.; BITTMAN, S.; GRANT, C. A. Prediction of soil nitrogen supply in corn production using soil chemical and biological indices. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 76, p. 925–935, 2012.

OLIVEIRA, R. A. **Plantas de cobertura em pré-safra e adubação nitrogenada no milho em plantio direto**. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2015.

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. 49, p. 893-904, 2013.

PEOPLES, M. B.; HERRIDGE, D. F.; LADHA, J.K. Biological nitrogen fixation: An efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production? **Plant and Soil**, The Hague, v. 174, p. 3-28,1995.

RAIJ, B. van.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Ed.) **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 235p.

RANGEL, O. J. P.; SILVA, C. A.; GUIMARÃES, P. T. G.; MELO, L. C. A.; OLIVEIRA JUNIOR, A. C. Carbono orgânico e nitrogênio total do solo e suas relações com os espaçamentos de plantas de cafeeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 2.051-2.059, 2008.

RAUN, W. R.; JOHNSON, G. V. Improving nitrogen use efficiency for cereal production. **Agronomy Journal**, Madison, v. 91, p. 357-363, 1999.

ROBERTS, T. L.; NORMAN, R. J.; SLATON, N. A.; WILSON, J. R. C. E.; ROSS, W. J.; BUSHONG, J. T. Direct steam distillation as an alternative to the Illinois soil nitrogen test. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 73, p. 1268–1275, 2009.

ROBERTS, T. L.; ROSS, W. J.; NORMAN, R. J.; SLATON, N. A.; WILSON Jr, C. E. Predicting nitrogen fertilizer needs for rice in Arkansas using alkaline hydrolysable-nitrogen. **Soil Science Society America Journal**, v. 75, p. 1161-1171, 2011.

ROS, G.H.; HOFFLAND, E.; van KESSEL, C.; TEMMINGHOFF, E.J.M. Extractable and dissolved soil organic nitrogen – A quantitative assessment. **Soil Biology & Biochemistry**, v.41, p.1029-1039, 2009.

ROS, G. H.; TEMMINGHOFF, E. J. M.; HOFFLAND, E. Nitrogen mineralization: a review and meta-analysis of the predictive value of soil tests. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 62, p.162–173, 2011.

SCHOMBERG, H. H.; WIETHOLTER, S.; GRIFFIN, T. S.; REEVES, D. W.; CABRERA, M. L.; FISHER, D. S.; ENDALE, D. M.; NOVAK, J. M.; BALKCOM, K. S.; KITCHEN, N. R.; LOCKE, M. A.; POTTER, K. N.; SCHWARTZ, R. C.; TRUMAN, C. C.; TYLER, D. D. Assessing indices for predicting potential nitrogen mineralization in soils under different management systems. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v. 73, p. 1575–1586, 2009. <http://dx.doi.org/10.2136/sssaj2008.0303>.

SCIVITTARO, W. B.; MURAOKA, T.; BOARETTO, A. E.; TRIVELIN, P. C. O. Utilização de nitrogênio de adubos verdes e mineral pelo milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 917-926, 2000.

SHARIFI, M.; ZEBARTH, B. J.; BURTON, D. L.; GRANT, C. A.; COOPER, J. N. Evaluation of some indices of potentially mineralizable nitrogen in soil. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 71, p.1233-1239, 2007.

SHARIFI, M.; ZEBARTH, B. J.; BURTON, D. L.; GRANT, C. A.; BITTMAN, S.; DRURY, C. F.; MCCONKEY, B. G.; ZIADI, N. Response of potentially mineralizable soil nitrogen and indices of nitrogen availability to tillage system. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 72, 1124–1131, 2008.

SIERRA, J.; MARBÁN, L. Nitrogen mineralization pattern of an oxisol of Guadeloupe, French West Indies. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v.64, p.2002-2010, 2000.

SILVA, E. C. da; MURAOKA, T.; BUZETTI, S.; VELOSO, M. E. da C.; TRIVELIN, P. C. O. Aproveitamento do nitrogênio (¹⁵N) da crotalária e do milheto pelo milho sob

plantio direto em Latossolo Vermelho de Cerrado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, p.739-746, 2006.

SIX, J.; CONANT, R. T.; PAUL, E. A.; PAUSTIAN, K. Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils. **Plant and Soil**, The Hague, v. 241, p. 155–176, 2002.

SMIL, V. Nitrogen in crop production: An account of global flows. **Global Biogeochemistry Cycles**, v. 13, p. 647–662, 1999.

SOUZA, W. J. O.; MELO, W. J. Teores de nitrogênio no solo e nas frações da matéria orgânica sob diferentes sistemas de produção de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 885-896, 2000.

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 American Journal**, Madison, v. 73, p. 434–442, 2009.

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

ST LUCE, M.; WHALEN, J. K.; ZIADI, N.; ZEBARTH, B. J. Nitrogen dynamics and indices to predict soil nitrogen supply in humid temperate soils. **Advances in Agronomy**, v. 112, p.56-88, 2011. DOI: 10.1016/B978-0-12-385538-1.00002-0

TAN, Z.; LAL, R.; OWENS, L.; IZAURRALDE, R. C. Distribution of light and heavy fractions of soil organic carbon as related to land use and tillage practice. **Soil Tillage Research**, Amsterdam, v. 92, p. 53–59, 2007.

THOMSEN, I. K.; OLESEN, J. E.; SCHJØNNING, P.; JENSEN, B.; CHRISTENSEN, B. T. Net mineralization of soil N and ¹⁵N-ryegrass residue in differently textured soils of similar mineralogical composition. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 33, p. 277-285, 2000.

TORRES, J. L. R.; PEREIRA, M. G.; FABIAN, A. J. Produção de fitomassa por plantas de cobertura e mineralização de seus resíduos em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 3, p. 421-428, 2008.

TORRES, J. L. R.; PEREIRA, M. G.; ANDRIOLI, I.; POLIDORO, J. C.; FABIAN, A. J. Decomposição e liberação de nitrogênio de resíduos culturais de plantas de cobertura em um solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, p. 609-618, 2005.

TISDALE, S. L.; NELSON, W. L.; BEATON, J. D. **Soil Fertility and Fertilizers**. 4th ed., New York, Macmillan Publishing Company, 1985.

TRINSOUTROT, I.; RECOUS, S.; BENTZ, B.; LINÈRES, M.; CHÈNEBY, D.; NICOLARDOT, B. Biochemical quality of crop residues and carbon and nitrogen mineralization kinetic under non limiting nitrogen conditions. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 64, p. 918-926, 2000.

VASCONCELLOS, C.A.; MARRIEL, I.E.; SANTOS, F.G.; MAGALHÃES, P.C.; OLIVEIRA, C.A. Resíduos de sorgo e a mineralização do nitrogênio em Latossolo Vermelho fase cerrado. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, p. 373-379, 2001.

VELTHOF, G. L.; OENEMA, O. Estimation of plant-available nitrogen in soils using rapid chemical and biological methods. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 41, p. 52–71, 2010.

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, Ribeirão Preto. **Resumos**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Biometria, 2006. 4p.

WHIETHÖLTER, S. Nitrogênio no solo sob plantio direto. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, p. 38-42, 2000.

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

WUTKE, E. B. Adubação verde: manejo da fitomassa e espécies utilizadas no Estado de São Paulo. In: WUTKE, E. B.; BULISANI, E. A.; MASCARENHAS, H. A. A. (Coords.) **Curso sobre adubação verde no Instituto Agrônômico**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1993. p.17-29. (Documentos IAC, 35)

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.