

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

FORMAS DE NITROGÊNIO ORGÂNICO EM SOLOS
TRATADOS COM ESTERCO BOVINO

Cássia Rita Adame
Zootecnista

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

FORMAS DE NITROGÊNIO ORGÂNICO EM SOLOS
TRATADOS COM ESTERCO BOVINO

Cássia Rita Adame

Orientadora: Profa. Dra. Mara Cristina Pessoa da Cruz

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

2018

A193f Adame, Cássia Rita
Formas de Nitrogênio Orgânico em Solos Tratados com Esterco
Bovino / Cássia Rita Adame. – – Jaboticabal, 2018
iii, 45 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2018
Orientadora: Mara Cristina Pessoa da Cruz
Banca examinadora: Felipe Batistella Filho, José Ricardo
Mantovani, André Cesar Vitti, Manoel Evaristo Ferreira
Bibliografia

1. fracionamento de N orgânico. 2. N potencialmente disponível.
3. método da destilação a vapor direta. 4. adubação orgânica. I. Título.
II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631416.1

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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: FORMAS DE NITROGÊNIO ORGÂNICO EM SOLOS TRATADOS COM ESTERCO BOVINO

AUTORA: CASSIA RITA ADAME

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:



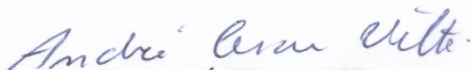
Profa. Dra. MARA CRISTINA PESSOA DA CRUZ
Departamento de Solos e Adubos / FCAV / UNESP - Jaboticabal



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. ANDRÉ CESAR VITTI
Polo Centro Sul / APTA - Piracicaba/SP



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

Jaboticabal, 23 de abril de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Cássia Rita Adame - nascida em 01 de dezembro de 1987 em Catanduva - SP, graduada em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FCAV/UNESP campus de Jaboticabal (2012). Foi membro do Grupo PET - Zootecnia (Programa de Educação Tutorial) no período de 2008 a 2010. Participou da Consultoria Agropecuária Júnior (CAP Jr), Empresa Júnior da Unesp, Campus de Jaboticabal, exercendo as funções de Trainee (2008) e membro do Projeto JabUNESP Recicla (2009). Foi bolsista de iniciação científica pela FAPESP no período de 2010 a 2011. Mestre em Zootecnia (Bolsista FAPESP) pela FCAV/UNESP campus de Jaboticabal e membro do Grupo de Pesquisa de Forragicultura da UNESP (UNESPFor), no período de 2012 a 2014. Durante o doutorado foi bolsista CAPES do programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo, pela FCAV/UNESP campus de Jaboticabal. Atua nas áreas de Zootecnia e Agronomia, com ênfase em Fertilidade do Solo, Uso e Manejo de Resíduos na Agricultura, Forragicultura e Pastagens, e Emissão de Gases do Efeito Estufa.

*“Gravitar para a unidade divina, eis o fim da Humanidade.
Para atingi-lo, três coisas são necessárias: a Justiça, o Amor e a Ciência.
Três coisas lhe são opostas e contrárias: a ignorância, o ódio e a injustiça...”*

Paulo, apóstolo.

DEDICO

Aos meus amados pais, Wanderlei Adame (*in memoriam*)
e Alice Aparecida Pansani Adame, que são minha base e sustentação

OFEREÇO

À minha família e amigos

"Educação não transforma o mundo. Educação muda pessoas.

Pessoas transformam o mundo."

Paulo Freire

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, e oportunidade de aprender, evoluir a cada dia...

À Profa. Mara Cristina Pessoa da Cruz, pela orientação, amizade, ensinamentos e pelo grande exemplo de profissional e de ser humano a seguir.

Ao meu companheiro de todas as horas Rafael Gonçalves Peluco, pelo amor, carinho, apoio e confiança depositada em mim.

Aos amigos Pós-Graduandos, Lucas Boscov Braos, Aline Carla T. Bettiol, Samira Furtado de Queiroz e a todos os integrantes do Laboratório de Fertilidade do Solo da FCAV - UNESP JABOTICABAL pela boa convivência e auxílio na realização das atividades.

À FCAV - UNESP JABOTICABAL, pela estrutura fornecida para minha graduação e pós-graduação.

Ao Prof. Manoel Evaristo Ferreira, pelo convívio, ideias e auxílio para melhoria deste trabalho.

À CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa de doutorado concedida.

À FCAV - UNESP JABOTICABAL, e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, pela estrutura fornecida para minha formação e desenvolvimento pessoal e profissional.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
3.1. Fracionamento do nitrogênio.....	12
3.1.1. Obtenção do hidrolisado ácido.....	13
3.1.2. Determinação das frações de N no hidrolisado ácido.....	14
a) N-NH_4^+ hidrolisável (N-NH_4^+ -hid).....	14
b) N-NH_4^+ hidrolisável + N-aminoaçúcares (N-NH_4^+ + N-AAç).....	15
c) N-aminoácidos (N-Aa).....	15
d) N-total hidrolisável (NT-hid).....	15
e) N-não identificado (N-NI).....	16
3.1.3. Determinação do N insolúvel em ácido (N-IA).....	16
3.2. Determinação do N disponível pelo método da destilação a vapor direta (N-DVD).....	16
3.3. Forma de análise dos resultados.....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4.1. Atributos químicos dos solos.....	17
4.2. Formas de N orgânico nos solos.....	24
4.3. Proporções das frações de N orgânico nos solos.....	32
4.4. Análise conjunta dos efeitos do esterco, da textura dos solos e do tempo de incubação nas frações de N orgânico.....	34
4.5. Relações entre formas de N e atributos do solo.....	38
5. CONCLUSÕES.....	40
6. REFERÊNCIAS.....	40

FORMAS DE NITROGÊNIO ORGÂNICO EM SOLOS TRATADOS COM ESTERCO BOVINO

RESUMO - O conhecimento das alterações na distribuição do N entre os reservatórios existentes no solo após aplicação de esterco bovino permite melhorar a compreensão dos efeitos da aplicação do adubo orgânico na disponibilidade de N para as plantas. Os objetivos com o presente foram avaliar as transformações do nitrogênio do esterco bovino em função da textura do solo e do tempo, e associar as formas de N orgânico com o N potencialmente disponível. O experimento foi conduzido em esquema fatorial, delineamento inteiramente ao acaso e quatro repetições. Os tratamentos foram resultantes da combinação de dois solos (argiloso, com 440 g kg⁻¹ de argila, e arenoso, com 120 g kg⁻¹ de argila), duas doses de esterco bovino (0 e o equivalente a 20 t ha⁻¹) e quatro tempos de incubação (15, 45, 90 e 180 dias). Nas amostras de solo foram determinados pH_{CaCl2}, C orgânico, N total, N extraído por destilação a vapor direta, N-NH₄⁺, N-NO₃⁻, e as seguintes frações do N orgânico: N-NH₄⁺ hidrolisável, N-aminoaçúcares, N-aminoácidos, N-total hidrolisável e N-insolúvel em ácido. Por cálculo foi obtido o N-não identificado. A aplicação de esterco aumenta as frações de N orgânico de mais fácil mineralização até próximo de 100 dias após a aplicação, e posteriormente, aumenta as frações de N orgânico de maior estabilidade, principalmente no solo argiloso. O N potencialmente disponível determinado por destilação a vapor direta correlacionou com as frações de N mais disponíveis, N-NH₄⁺ hidrolisável, N-aminoaçúcares e N-aminoácidos.

Palavras-chave: fracionamento de N orgânico, N potencialmente disponível, método da destilação a vapor direta, adubação orgânica.

FORMS OF ORGANIC NITROGEN IN SOILS TREATED WITH CATTLE MANURE

ABSTRACT - The knowledge of the changes in the N distribution among the soil existing N pools after cattle manure additions, allows to improve the understanding of the effects of organic fertilizer additions on N availability to plants. The aim of this study was to evaluate the nitrogen transformations of cattle manure as a function of soil texture and of time, and to associate organic N forms with the potentially available N. The experiment was carried out in a factorial scheme, completely randomized design with four replicates. The treatments were the result of a combination of two soils (typic Hapludox clayey, with 440 g kg⁻¹ clay, and arenic Hapludult, sand, with 120 g kg⁻¹ clay), two doses of cattle manure (0 and 20 t ha⁻¹) and four incubation times (15, 45, 90 and 180 days). In the soil samples were determined, pHCaCl₂, organic C, total N, N extracted by direct steam distillation, NH₄⁺-N, NO₃⁻-N and the following organic N fractions: ammonia-N, amino sugar-N, amino acid-N, total hydrolysable-N and non-hydrolyzable-N. By calculation it was obtained the hydrolyzable unknown-N. The cattle manure additions increases the organic N fractions of easier mineralization until about 100 days after the addition, and later, it increases the fractions of organic N of greater stability, mainly in the clay soil. Potentially available N determined by direct steam distillation correlated with the most available N fractions, NH₄⁺-N hydrolysable, amino sugars-N and amino acids-N.

Keywords: N organic fractionation, N availability, potentially available N, direct steam distillation method, organic fertilization

1. INTRODUÇÃO

O potencial de geração de resíduos na criação de animais é muito alto e, no Brasil, que apresenta um dos maiores rebanhos bovinos do mundo, a quantidade de esterco que pode ser aproveitada é alta, e a destinação mais comum é a aplicação ao solo. Do ponto de vista da fertilidade do solo e da nutrição das plantas, o uso do esterco como adubo orgânico tem como reflexo o fornecimento de nutrientes e a melhora de outros atributos químicos relacionados à diminuição da acidez e ao aumento do teor de matéria orgânica e da CTC do solo. Há também efeito da aplicação de esterco em atributos físicos associados à melhora da estrutura do solo que acompanha o aumento do teor de matéria orgânica.

Dos nutrientes que são liberados durante a mineralização do esterco há particular interesse no nitrogênio, devido ao alto custo de produção dos adubos nitrogenados industrializados. O N total do esterco é constituído, em sua maior parte, de moléculas orgânicas estáveis, que após a adição do esterco ao solo, precisam ser decompostas pelos microrganismos para dar origem às formas de N absorvidas pelas plantas (N-NH_4^+ e N-NO_3^-). Contudo, os constituintes do esterco decompõem em taxas variáveis, devido às diferentes formas de N orgânico encontradas no resíduo. Estas formas podem ser compostos relativamente lábeis, de ciclagem rápida, ou moléculas bastante humificadas e recalcitrantes, de ciclagem lenta, havendo um gradiente entre esses extremos.

O nitrogênio proveniente do esterco se redistribui entre várias formas no solo. Ao mesmo tempo em que parte do N orgânico dos solos adubados com esterco é mineralizado, outra parte pode passar por transformações que aumentam a estabilização, com aumento da força das ligações químicas das substâncias ou por proteção física das moléculas pelas argilas. Ainda, parte do N mineral pode ser imobilizado por microrganismos para formar tecido microbiano. Deste modo, a mineralização das diferentes formas de N contidas no esterco pode variar de dias a anos e até a milênios.

As transformações do N no solo são influenciadas diretamente pelas características físicas, químicas e microbiológicas do solo, e pelas características do

próprio esterco, especialmente a proporção das formas orgânica e mineral de N e a relação carbono/nitrogênio (C/N).

Apesar de muito utilizado, pouco se conhece sobre as transformações do N em solos adubados com esterco bovino. O estudo das frações de N orgânico e das suas transformações ao longo do tempo pode auxiliar na previsão da disponibilização de N para as plantas cultivadas, inclusive com definição de expectativa de efeito residual.

Trabalhou-se, no presente caso, com a hipótese de que o N do esterco, após passar por uma fase de transformações rápidas, tende a acumular em formas mais estáveis, menos disponíveis, particularmente em solos argilosos. Deste modo, com este trabalho objetivou-se avaliar transformações do nitrogênio do esterco bovino em função da textura do solo e do tempo de contato, e associar formas de N orgânico com o N potencialmente disponível.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O nitrogênio é um dos elementos mais abundantes na natureza. No entanto, praticamente não existe nas rochas que dão origem aos solos, e a sua entrada no sistema solo-planta ocorre por deposições atmosféricas, fixação biológica e adubações químicas ou orgânicas (CANTARELLA, 2007).

Uma forma de adubação orgânica usada há milênios é a aplicação de esterco bovino, que de modo geral tem como finalidades fornecer nutrientes para as plantas, particularmente N, e também melhorar a qualidade do solo, pois pode levar ao aumento do teor de matéria orgânica. As concentrações de N no esterco são, de modo geral, altas, porque os animais usam somente cerca de 20 a 25% do N ingerido, e excretam nas fezes e urina o restante do N fornecido na alimentação (CHANG; JANZEN, 1996). Nos estercos, o N predomina na forma orgânica e, após aplicação no solo ele será, na sua maior parte, disponibilizado lentamente, ao longo de anos (OLK, 2008), pela ação decompositora dos microrganismos que utilizam os resíduos e a matéria orgânica do solo como fonte de carbono e nitrogênio para a sua atividade e crescimento (MCGILL; COLE, 1981).

A partir da atividade microbiana, parte do N orgânico é convertido em NH_4^+ e NO_3^- , no processo designado mineralização, que fornece quantidades consideráveis de N inorgânico para as culturas (OLK, 2008). O N orgânico do solo é constituído por proteínas, quitinas, aminoaçúcares e ácidos nucleicos (PIERZYNSKI; SIMS; VANCE, 2005), e representa 98% do N total do solo (OLK, 2008). A mineralização do N orgânico ocorre em duas etapas: aminização e amonificação (Figura 1). Na primeira, as proteínas são convertidas em aminoácidos, aminas e ureia. Na etapa seguinte, as formas derivadas das proteínas são convertidas em N-NH_4^+ . Em ambas as etapas atuam numerosas espécies de microrganismos heterótrofos.

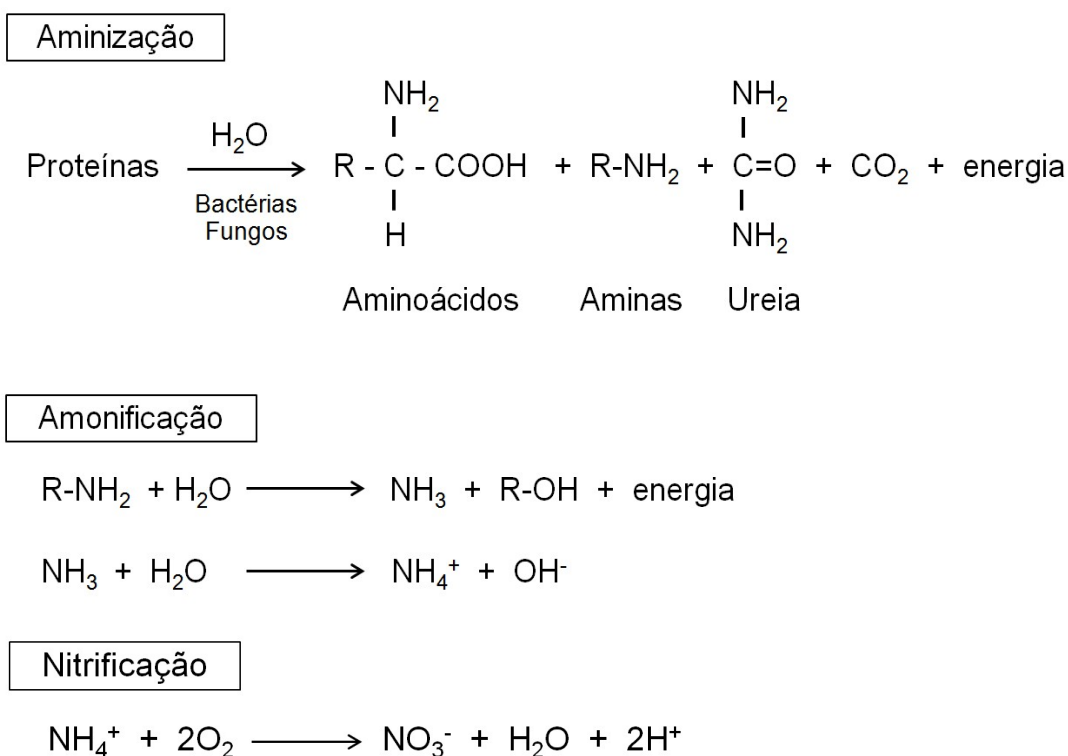


Figura 1. Reações de mineralização do N orgânico e de nitrificação do amônio.

O N mineralizado corresponde aos outros 2% do N total do solo. O íon NH_4^+ é considerado o primeiro produto mineral do processo, e por ser um cátion, pode permanecer no solo em forma trocável, adsorvido às cargas negativas dos coloides, está sujeito à absorção pelas plantas ou microrganismos, a ser perdido por volatilização na forma de NH_3 ou, preferencialmente, em solos aerados, a ser convertido a N-NO_3^- . Esta conversão é conhecida como nitrificação e ocorre sob a ação de bactérias autótrofas específicas. As reações são conhecidas há muito

tempo e estão descritas na publicação de Havlin et al. (2005) (Figura 1). Por ser um ânion, o N-NO_3^- é repelido pela superfície negativa das partículas do solo e permanece em solução, o que o torna muito móvel e suscetível à lixiviação (RAIJ, 2011).

As formas de N mineralizadas têm, portanto, natureza transitória no solo, de modo que a quantidade existente em dado momento depende de numerosos processos, incluindo a própria mineralização, e também a imobilização, a nitrificação, a denitrificação, a lixiviação e a absorção pelas plantas. Assim, o N mineral pode ter pouco valor para prever a disponibilidade de N durante o período de crescimento da cultura (MULVANEY et al., 2001). Deste modo, o estudo das frações de N orgânico e das suas transformações ao longo do tempo pode auxiliar na previsão da disponibilização de N para as plantas cultivadas. No estudo das formas de N orgânico por hidrólise ácida são obtidas as seguintes frações: N-total hidrolizável, que é subdividido em N-NH_4^+ hidrolizável, N-aminoaçúcares, N-aminoácidos e N-não identificado, e N-insolúvel em ácido, que é fração que permanece associada aos minerais do solo mesmo após a hidrólise ácida.

Embora o método de fracionamento do N tenha sido proposto na década de 1960 (BREMNER, 1965), ele poucas vezes foi aplicado em amostras de solos tropicais (CAMARGO; GIANELLO; VIDOR, 1997; ALFAIA, 2006; KUHNEN, 2013; OTTO et al., 2013; BERGAMASCO, 2015). Otto et al. (2013) estudaram as frações de N orgânico em solos do Estado de São Paulo cultivados com cana-de-açúcar e observaram que houve predomínio de N-aminoácidos e que, com incubação por 12 semanas, o N total hidrolizável não variou, mas houve diminuição no N-NH_4^+ hidrolizável. Kuhnén (2013) aplicou o método a um conjunto de amostras de solos do Estado de São Paulo com coberturas vegetais diferentes e também observaram predomínio da fração N-aminoácidos, com a seguinte distribuição: 14-38% na forma de N-NH_4^+ hidrolizável; 36-52% na forma de $\text{N-(NH}_4^+ + \text{AAç)}$; 10-32% na forma de N-aminoaçúcares; 26-46% na forma de N-aminoácidos; e 3-28% na forma de N-não identificado, observaram.

Comparado aos métodos químicos em que são usadas extrações únicas, o fracionamento é demorado e difícil de executar, mas tem como vantagens as possibilidades de definir quais reservatórios de N do solo mais contribuem com o N

disponível, detectar alterações na distribuição do N entre os reservatórios devido a mudanças de manejo e, assim, concluir sobre os efeitos do manejo na disponibilidade de N e ajustar as doses recomendadas.

Ainda, a partir de esquemas de fracionamento complexos, e após definir qual reservatório do nutriente melhor representa o N disponível, é possível propor métodos de extração mais simples e rápidos, que possam ser colocados à disposição nas análises de solo. Como ainda não há um método de análise de N no solo que possa ser usado como referência para recomendação da quantidade de nitrogênio a ser aplicada, a recomendação atualmente é feita com base na expectativa de produtividade e histórico da área (RAIJ et al., 1996) ou, ainda, com base na expectativa de produtividade, histórico da área e teores de matéria orgânica do solo (CANTARELLA, 2007). Não considerar a disponibilização de nitrogênio no solo por meio da mineralização do nitrogênio orgânico pode levar a superestimação da adubação, o que acarreta em desperdício para o agricultor e maior risco de poluição ambiental (KHAN; MULVANEY; HOEFT, 2001).

Para determinar as frações do N orgânico do solo são utilizados métodos químicos, nos quais os extratores são soluções ácidas e alcalinas com diferentes forças de extração. O método de fracionamento do N orgânico do solo foi proposto por Bremner (1965) a partir do método usado para análise de proteína, e posteriormente adaptado por Stevenson (1996). Neste método, o material proteico do solo é hidrolisado por um ácido forte com aquecimento, e a distribuição do N após a hidrólise ácida é determinada por processos que envolvem a separação e a quantificação, por destilação a vapor, das frações N-total hidrolisável, N-NH_4^+ hidrolisável, N-aminoaçúcares, N-aminoácidos e N-insolúvel em ácido, e por cálculo, obtém-se o N-não identificado no hidrolisado. Mais recentemente, Mulvaney e Khan (2001) propuseram substituir a destilação a vapor, que era o método utilizado para a quantificação do N nas frações, pelo método da difusão, que é uma alternativa simples, eficiente, e que apresenta maior precisão para quantificar as frações de N-aminoaçúcares e N-aminoácidos. Na difusão usam-se câmaras do tipo Mason Jar, que são frascos de vidro fechados hermeticamente, com uma adaptação na tampa para manter suspenso um recipiente contendo solução ácida capaz de adsorver a NH_3 liberada durante a difusão da amostra.

A avaliação das formas e das transformações do N do solo é extremamente complexa, não só por causa das várias formas que o N assume durante as transformações por microrganismos, mas também por causa da dificuldade em prever as alterações que ocorrerão entre estas formas, ao longo do tempo, durante essas transformações. Quando se faz adição ao solo de um resíduo orgânico, os constituintes do resíduo decompõem em taxas variáveis, devido às diferentes formas de N orgânico encontradas no resíduo, que podem ser de ciclagem mais rápida ou mais lenta, dependendo da complexidade da molécula, e das condições do meio.

Admite-se que açúcares simples, aminoácidos, muitas proteínas e certos polissacarídeos são decompostos muito rapidamente pelos microrganismos e podem ser utilizados completamente em questão de horas ou dias. No entanto, as macromoléculas que compõem a maior parte dos resíduos de plantas, devem primeiramente ser quebradas em unidades mais simples para que possam ser utilizadas pelos microrganismos para obtenção de energia e para síntese de novas células. Os polissacarídeos, como a celulose, são quebrados em oligossacarídeos e, finalmente, em açúcares simples, e as proteínas são transformadas em peptídeos e aminoácidos (STEVENSON, 1986). A maior parte do N orgânico do solo encontra-se em formas químicas resistentes ao ataque microbiano, com isso, a meia-vida do N do solo foi estimada em cerca de 180 anos (HAUCK; TANJI, 1982), e para frações de N orgânico protegidas contra a decomposição pela formação de complexos com argilominerais no solo, a meia-vida pode passar de 1.000 anos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Devido às formas químicas do N orgânico apresentarem resistência diferente ao ataque microbiano, as frações de N orgânico que são determinadas no fracionamento químico podem ser ordenadas segundo seu grau de dificuldade de degradação conforme está na Figura 2. Segundo o esquema, a fração N-NH_4^+ hidrolisável apresenta a menor dificuldade de decomposição, e por isso representa o reservatório de N de mais rápida liberação para plantas e microrganismos, sendo predominantemente originado da decomposição de compostos orgânicos lábeis, de NH_4^+ trocável e de NH_4^+ fixado em argilas (QIU et al., 2012; LÜ et al., 2013). Na sequência, com degradação intermediária entre o N-NH_4^+ hidrolisável, que é mais lábil, e o N-aminoácidos, que é menos lábil (OTTO et al., 2013), está a fração de N-

aminoaçúcares, que ocorre principalmente em material de parede celular produzido por bactérias, actinomicetos e fungos (PARSONS, 1981).

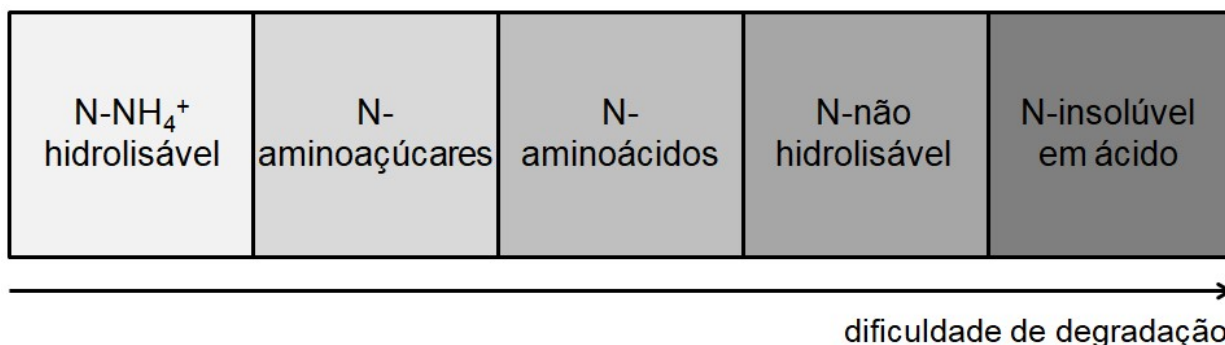


Figura 2. Gradiente de dificuldade de degradação das frações de N orgânico.

Assim como o N-aminoaçúcares, a fração N-aminoácidos está muito presente em constituintes dos tecidos microbianos. Além disto, o N-aminoácidos também pode ser liberado pela hidrólise de proteínas e peptídeos intimamente associados e protegidos por materiais húmicos e constituintes inorgânicos do solo, tais como minerais de argila e óxidos de ferro e de alumínio (SCHULTEN; SCHNITZER, 1998). Em seguida, com maior dificuldade de degradação que as frações anteriores, está a fração de N-não identificado, que corresponde a compostos hidrolisáveis como vestígios de ácidos nucleicos e outros produtos bioquímicos nitrogenados que não são identificados por necessitarem de técnicas específicas para sua separação e identificação, sendo contabilizados como N-não identificável.

Por último na sequência estabelecida na Figura 2, com a maior dificuldade de degradação, está a fração de N-insolúvel em ácido, que corresponde ao N orgânico resistente à hidrólise ácida e de natureza não proteica (SCHNITZER; HINDLE, 1981), que muitas vezes não é determinado nos esquemas de fracionamento, e fica agrupado com outros compostos não identificados. Ela é considerada o produto resultante da condensação de aminoácidos com açúcares redutores durante a hidrólise, mas acredita-se também que essa forma de N ocorra como componente estrutural de substâncias húmicas (STEVENSON, 1982). São formas mais recalcitrantes, como compostos derivados do benzeno e formas peptídicas refratárias que não são hidrolisadas (SCHULTEN; SCHNITZER, 1998).

Estudos indicam as formas hidrolisáveis de N-aminoaçúcares e N-aminoácidos como as principais fontes de N potencialmente disponível para as

culturas. Em experimento de incubação empregando 18 amostras de solo dos Estados Unidos com cultivo de milho em diferentes sistemas de manejo, a maior produção de N mineral foi acompanhada de diminuição do N-aminoaçúcares, mas não de N-aminoácidos. A forma de N-aminoaçúcares também foi correlacionada com a probabilidade ou não de resposta à adubação nitrogenada, em que teores menores ($<200 \text{ mg kg}^{-1}$) de N-aminoaçúcares foram determinados nos solos que responderam a adubação nitrogenada, e teores maiores ($>250 \text{ mg kg}^{-1}$) de N-aminoaçúcares foram determinados nos solos que não responderam à adubação nitrogenada (MULVANEY et al., 2001). Desta maneira, o acúmulo desta fração de N orgânico no solo levaria ao fornecimento de N mineral para plantas pela mineralização em curto período de tempo, o que resultaria em não resposta ao fertilizante nitrogenado.

Em cultivos de milho e pastagem em solo da Venezuela, os reservatórios de N mais ativos e a principal fonte de N potencialmente disponível para as plantas foram as frações hidrolisáveis, N-NH_4^+ , N-aminoaçúcares, e especialmente o N-aminoácido, que diminuiu continuamente até 131 dias após a semeadura do milho. Além disto, estas frações foram mais sensíveis ao impacto da intensificação do uso do solo do que o N total, sendo mais úteis para a detecção precoce do empobrecimento do solo (GONZALEZ-PRIETO et al., 1997).

Em outro estudo comparando pastagem com o solo adjacente não cultivado, todas as frações hidrolisáveis do N do solo diminuíram, mas a maior diminuição ocorreu na fração N-aminoácidos. Ao fazer adubação nitrogenada na área, a concentração de N-aminoaçúcares aumentou e a de N-aminoácidos diminuiu (TIAN et al., 2017).

Com a utilização de esterco bovino, suíno ou de frango, após 161 dias de incubação dos adubos com o solo, houve diminuição de todas as frações hidrolisáveis de N (N-NH_4^+ hidrolisável, N-aminoaçúcares, N-aminoácidos e N-não identificado), indicando que elas são as que mais contribuem para a produção de N mineral que pode ser absorvido pelas plantas. Dentre estas frações, a de N-aminoácidos foi a principal fonte de N orgânico para a mineralização, pois foi a que melhor se correlacionou com o N mineralizado (LI; LI, 2014). A adubação com esterco bovino por 10 anos em área com cultivo de milho e rotação com

leguminosas, resultou, por outro lado, em níveis elevados de N-aminoaçúcares e N-aminoácidos, o que sugere crescimento ou abundância de microrganismos no solo, uma vez que estes compostos são típicos das células microbianas (WANDER et al., 2007).

Além de avaliar a contribuição das formas de N no N disponível, os esquemas de fracionamento podem ser usados para avaliar as transformações do N em solos adubados com adubos orgânicos. A utilização de composto orgânico feito com palha de arroz e esterco de frango aumentou o N-total hidrolisável, o N-NH_4^+ hidrolisável, o N-aminoaçúcares e o N-aminoácidos após 60 dias de incubação. No entanto, aos 90 dias, houve diminuição do N-total hidrolisável, do N-aminoaçúcares e do N-aminoácidos, e aumento do N-NH_4^+ hidrolisável (LATIFAH; AHMED; MAJID, 2017).

As pesquisas feitas até hoje no Brasil com aplicação de esterco bovino enfatizaram a resposta de produção das culturas, porém, são escassos os estudos que visam conhecer as transformações pelas quais o N do esterco passa após sua incorporação ao solo e que estão relacionadas ao potencial de disponibilização, armazenamento e perdas de N.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados dois solos, na camada de 0 a 20 cm, um Latossolo Vermelho argiloso (LV), em área de cultivo de seringueira, em Jaboticabal-SP, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, e um Argissolo Vermelho-Amarelo arenoso (PVA), em área de cultivo de mangueira, em Monte Alto-SP. Em ambas as situações o solo foi coletado nas entrelinhas das culturas.

Os solos foram secos ao ar, destorroados e passados em peneira de 4 mm de abertura de malha. Do volume total coletado foi obtida amostra que foi passada em peneira de 2 mm para determinação dos atributos químicos de rotina (Tabela 1), segundo métodos descritos em Raij et al. (2001); a granulometria, segundo Camargo et al. (2009) (Tabela 2); o N total, o N-NH_4^+ e o N-NO_3^- (CANTARELLA; TRIVELIN, 2001); o N disponível pelo método da destilação a vapor direta (ROBERTS et al., 2009) (Tabela 3); e as frações do N orgânico N-NH_4^+ hidrolisável (N-NH_4^+ hid), N-aminoaçúcares (N-AAç), N-aminoácidos (N-Aa), N-não identificado

(N-NI), N- total hidrolisável (N-total hid) e N-insolúvel em ácido (N-IA), pelo método descrito por Mulvaney e Khan (2001) (Tabela 4).

Tabela 1. Atributos químicos dos solos utilizados no experimento.

Solo	C orgânico	P resina	MO	pH CaCl ₂	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	H+Al	SB	CTC	V
	g kg ⁻¹	mg dm ⁻³	g dm ⁻³				mmol _c dm ⁻³				%
LV ⁽¹⁾	15	6	25	5,1	1,8	22	14	26	38	64	59
PVA	14	13	26	4,2	4,2	11	6	34	21	55	38

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

Tabela 2. Granulometria dos solos utilizados no experimento.

Solo	Areia	Silte	Argila	Classe textural
	g kg ⁻¹			
LV ⁽¹⁾	450	110	440	argiloso
PVA	840	40	120	arenoso

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

Tabela 3. N total, N mineral e N potencialmente mineralizável determinados nas amostras de solo usadas no experimento.

Solo	N-total do solo	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₃ ⁻	N-DVD
	mg kg ⁻¹			
LV ⁽¹⁾	1.184	13,72	0,68	148,76
PVA	827	18,58	0,89	140,53

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

Tabela 4. Frações de N orgânico dos solos utilizados no experimento.

Solo	N-NH ₄ ⁺ Hidrolisável	N-AAç ⁽¹⁾	N-Aa	N-NI	N-total Hidrolisável	N-IA
	mg kg ⁻¹					
LV ⁽²⁾	120,26	254,30	60,20	205,86	650,00	122,42
PVA	112,21	201,03	3,51	234,95	552,69	37,13

⁽¹⁾ N-AAç = N-aminoaçúcares; N-Aa = N-aminoácidos; N-NI = N-não identificado; N-IA = N-insolúvel em ácido.

⁽²⁾ LV = Latossolo Vermelho; PVA = Argissolo Vermelho-Amarelo.

O esterco utilizado no experimento foi coletado no Setor de Bovinocultura de Leite da FCAV (Jaboticabal-SP). O material coletado passou por processo de estabilização de aproximadamente 6 meses. Após este período o esterco foi seco, passado em peneira de 4 mm de abertura de malha e amostrado para determinação dos atributos químicos. O pH foi determinado em água (BRASIL, 2013); C e N por combustão seca em equipamento LECO® C/N628; N-NH₄⁺, N-NO₃⁻ (CANTARELLA; TRIVELIN, 2001); N disponível pelo método da destilação a vapor direta (N-DVD)

(ROBERTS et al., 2009); as frações de N orgânico (MULVANEY; KHAN, 2001) já mencionadas na caracterização do solo; hemicelulose, celulose e lignina pelo método descrito por Silva e Queiroz (2002). Os resultados obtidos foram: pH, 7,4; C, 366 g kg⁻¹; N, 33 g kg⁻¹; N-NH₄⁺, 110 mg kg⁻¹; N-NO₃⁻, 224 mg kg⁻¹; N-DVD, 1.572 mg kg⁻¹; N-NH₄⁺ hid, 1.288 mg kg⁻¹; N-AAç, 3.113 mg kg⁻¹; N-Aa, 104 mg kg⁻¹; N-NI, 12.618 mg kg⁻¹; N-total hid, 15.622 mg kg⁻¹ e N-IA, 6.282 mg kg⁻¹; hemicelulose, 110 g kg⁻¹; celulose, 280 g kg⁻¹; e lignina, 172 g kg⁻¹; as relações C/N, 11, e lignina/N, 5.

O experimento foi conduzido seguindo esquema fatorial combinando os fatores solo (LV e PVA) x adubo (controle e 20 t ha⁻¹ de esterco bovino em base seca, que resultaram na aplicação de 660 kg ha⁻¹ de N) x tempo de contato entre solo e adubo (15, 45, 90 e 180 dias). Foi utilizado delineamento inteiramente ao acaso com quatro repetições, totalizando 64 parcelas.

Porções equivalentes a 3,2 dm³ de cada solo foram pesadas e colocadas em sacos de plástico. Com base na análise de solo, a acidez foi corrigida para atingir valor de índice de saturação por bases de 70%. A calagem foi feita empregando carbonatos de cálcio e de magnésio puros, mantendo a relação Ca:Mg de 3:1, que foram pesados separadamente e misturados, a seco, com o volume de solo. Após a adição e a mistura dos corretivos, os solos foram transferidos para vasos com capacidade para 3,3 dm³, umedecidos a 60% da capacidade de retenção de água, cobertos com papel e mantidos em incubação em casa de vegetação. A manutenção da umidade foi feita por meio de pesagem dos vasos e reposição de água três vezes por semana. As datas de início da incubação foram 22 e 23 de março de 2015 e o término ocorreu 30 dias após o início, tempo suficiente para a reação do corretivo com o solo.

Após o término da incubação com os corretivos de acidez, o solo foi retirado dos vasos, seco, passado por peneira de 4 mm de abertura de malha e colocado em sacos de plástico. Nos tratamentos com aplicação de esterco bovino, foi feita a adição e mistura do esterco, em dose equivalente a 20 t ha⁻¹. Para conversão desta dose foi usado o volume de solo da camada de 0 a 20 cm de profundidade.

Após a mistura do esterco com o solo, o solo de todos os tratamentos foi novamente transferido para os vasos, reumedecido a 60% da capacidade de retenção de água, e colocado para incubar em casa de vegetação pela segunda vez.

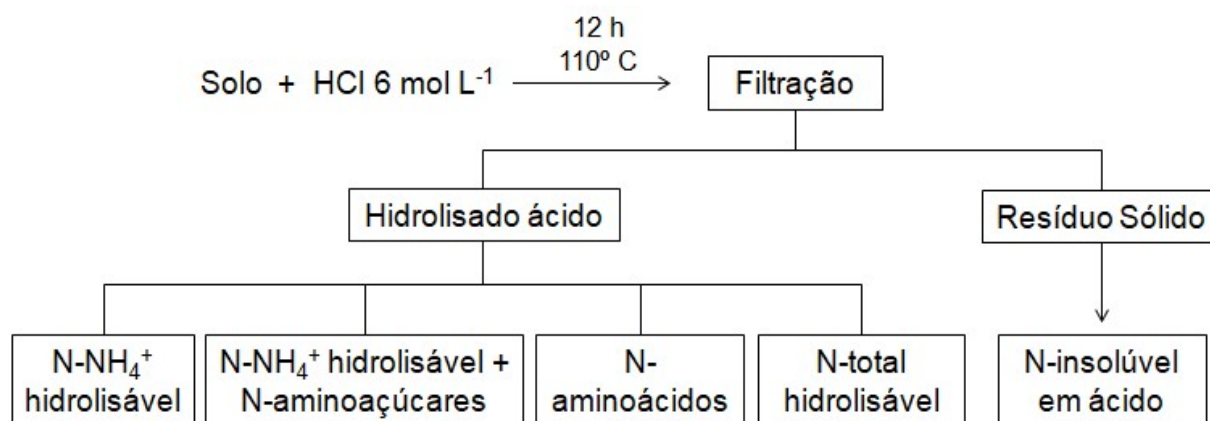
Os vasos foram casualizados na bancada da casa de vegetação e durante a condução do experimento foram movimentados para minimizar efeitos do ambiente. Durante o período de incubação dos solos, os vasos foram mantidos cobertos com papel e a umidade do solo foi mantida conforme já descrito.

No dia 28 de abril de 2015 foi iniciada a incubação do solo das parcelas correspondentes ao tempo de incubação de 180 dias. As parcelas correspondentes aos tempos 90, 45 e 15 dias foram incubadas a partir de 23 de julho, 2 de setembro e 28 de setembro, respectivamente. Deste modo, o término da incubação das parcelas correspondentes aos tempos 15, 45, 90 e 180 dias ocorreu em datas próximas, com intervalo de 4 dias entre o término de incubação de cada conjunto de amostras, que foi o mínimo necessário para que fossem feitos o preparo e a coleta das amostras de solo.

Após a conclusão do período de incubação, o solo foi retirado dos vasos, homogeneizado e espalhado sobre plástico para secar. Depois de seco, o solo foi passado em peneira de 4 mm de abertura de malha, homogeneizado e amostrado (cerca de $0,4 \text{ dm}^3$). Nas amostras de solo foram determinados: pH em solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ na relação solo:solução de 1:2,5 (v:v), C orgânico total empregando oxidação por via úmida e quantificação volumétrica do C (RAIJ et al., 2001), N-NH_4^+ , N-NO_3^- e N total (CANTARELLA; TRIVELIN, 2001), N disponível pelo método da destilação a vapor direta (ROBERTS et al., 2009), e as frações de N orgânico anteriormente mencionadas, seguindo o procedimento proposto por Mulvaney e Khan (2001), que será descrito a seguir.

3.1. Fracionamento do nitrogênio

No fracionamento do N orgânico do solo (Figura 3) foram inicialmente obtidos o hidrolisado ácido (solo – HCl 6 mol L^{-1}) e o resíduo sólido. No hidrolisado filtrado foram determinados: N-NH_4^+ hidrolisável (NH_4^+ -hid), N-NH_4^+ hidrolisável + N-aminoaçúcares (NH_4^+ hid + N-AAç), N-aminoácidos (N-Aa) e N-total hidrolisável (NT-hid). A fração N-aminoaçúcares (N-AAç) foi obtida por diferença [$(\text{NH}_4^+ + \text{N-AAç}) - \text{NH}_4^+$ -hid], e a fração N-não identificado (N-NI) foi calculada pela diferença entre o N-total hidrolisável e a soma das frações NH_4^+ -hid + N-AAç + N-Aa. No resíduo sólido foi determinado o N insolúvel em ácido (N-IA).



$\text{N-aminoaçúcares} = (\text{N-NH}_4^+ \text{ hidrolisável} + \text{N-aminoaçúcares}) - \text{N-NH}_4^+ \text{ hidrolisável}$

$\text{N-não identificado} = \text{N-total hidrolisável} - (\text{N-NH}_4^+ \text{ hidrolisável} + \text{N-aminoaçúcares} + \text{N-aminoácidos})$

Figura 3. Esquema geral da obtenção das frações do N orgânico.

3.1.1. Obtenção do hidrolisado ácido

Foram transferidos 5 g de solo para tubos de digestão com capacidade para 50 mL, aos quais foram adicionados 20 mL de solução de HCl 6 mol L⁻¹ e duas gotas de álcool octil. Na boca dos tubos de digestão foi colocado um funil de vidro pequeno (25 mm de diâmetro), e os tubos foram colocados em bloco digestor pré-aquecido a 110-120°C e nele mantidos por 12 horas. A filtragem do hidrolisado de solo foi feita através de papel de filtro Whatman nº. 50, com 5,5 cm de diâmetro, previamente seco em estufa (105°C por 1 hora) e pesado. Na transferência do hidrolisado ácido para o papel de filtro foi feita lavagem do tubo de digestão com pequenas quantidades de água desionizada para garantir transferência completa e diminuir a concentração da solução. A filtragem foi feita durante a noite e o hidrolisado filtrado foi recebido em frasco de plástico de 80 mL. O ajuste do valor de pH do hidrolisado foi feito transferindo o extrato do copo de 80 mL para bquer de vidro de 150 mL, ao qual foi feita adição, gota a gota, de solução de NaOH 10 mol L⁻¹ até, aproximadamente, pH 5,0 e, a partir deste valor, foi feita adição, gota a gota, de solução de NaOH 1 mol L⁻¹ até obtenção de pH 6,5 a 6,8 (BREMNER, 1965; STEVENSON, 1996). Durante o ajuste do pH, o hidrolisado foi mantido em agitação com auxílio de agitador magnético e a mudança do valor de pH foi acompanhada com peagômetro digital pela introdução de eletrodo combinado na solução. Na fase inicial do ajuste, a cada gota de solução de NaOH 10 mol L⁻¹ adicionada, a agitação

foi interrompida e o eletrodo foi introduzido na solução para averiguação do valor de pH. Em valor de pH próximo de 5,0, no qual ocorre a coagulação das proteínas, a viscosidade da solução aumenta e a velocidade de agitação diminui, de modo que o eletrodo pode ser mantido no hidrolisado até o final do ajuste do pH. Após o ajuste do valor de pH, o hidrolisado foi transferido para balão volumétrico com capacidade para 100 mL e o volume foi completado com água desionizada, armazenado em frasco de vidro e mantido sob refrigeração (5°C) até análise.

3.1.2. Determinação das frações de N no hidrolisado ácido

a) N-NH_4^+ hidrolisável (N-NH_4^+ -hid): Foram transferidos 10 mL de hidrolisado para câmaras de difusão com capacidade para 473 mL (Mason jar), com fechamento hermético e adaptação na tampa para manter béquer suspenso (Figura 4). Em seguida, adicionou-se 0,05 g de MgO com medida calibrada e 10 mL de água desionizada. A mistura foi homogeneizada, e em até 30 segundos, as câmaras foram fechadas com a tampa adaptada contendo um béquer de 50 mL, no qual foram colocados 5 mL de solução de H_3BO_3 20 g L^{-1} . Os recipientes foram movimentados suavemente para homogeneizar a amostra e mantidos em chapa aquecedora a 48-50°C por 2 h. Os béqueres foram retirados dos suportes e o N-NH_4^+ adsorvido pela solução de H_3BO_3 foi titulado com solução de H_2SO_4 0,00125 mol L^{-1} em titulador automático (Metrohm 848 Titrino plus).



Figura 4. Câmara de difusão com tampa adaptada.

b) N-NH_4^+ hidrolisável + N-aminoaçúcares (N-NH_4^+ hid + N-AAç): Foram transferidos 10 mL do hidrolisado de solo e 2 mL de solução de NaOH 10 mol L^{-1} para câmaras de difusão. A mistura foi homogeneizada e os frascos foram fechados, com intervalo máximo de 30 segundos entre a adição da solução de NaOH e o fechamento dos frascos. Os recipientes foram mantidos em chapa aquecedora por 5 h a $48\text{-}50^\circ\text{C}$. Na determinação do N-NH_4^+ foi adotado o mesmo procedimento descrito para o N-NH_4^+ hidrolisável.

c) N-aminoácidos (N-Aa): Às mesmas câmaras de difusão contendo o hidrolisado obtido após a completa difusão do $\text{N-(NH}_4^+ + \text{AAç)}$, foram adicionados 10 mL de água desionizada, 2,5 mL de solução de H_2SO_4 5 mol L^{-1} e 1 mL de solução de ninhidrina 100 g L^{-1} em metanol. Após homogeneização da mistura, os recipientes foram fechados, mas sem vedar totalmente. O aquecimento foi feito em chapa aquecedora a $95\text{-}100^\circ\text{C}$ por 90 min. Após o resfriamento da amostra foi adicionado 1 mL de solução de NaOH 10 mol L^{-1} , o extrato foi homogeneizado, e os recipientes foram fechados em até 30 segundos após a adição da solução, usando a tampa modificada com suporte para béquer. No béquer, como nas outras frações, foram colocados 5 mL de solução de H_3BO_3 20 g L^{-1} para adsorção de N-NH_4^+ . Os extratos foram reaquecidos em chapa aquecedora a $48\text{-}50^\circ\text{C}$ e mantidos nesta condição por 2 h. Na determinação do N-NH_4^+ foi seguido o procedimento descrito para o N-NH_4^+ hidrolisável.

d) N-total hidrolisável (NT-hid): Para tubo de digestão (25 cm de comprimento, 2,2 cm de diâmetro e volume de 80 mL) foram transferidos 5 mL de hidrolisado neutralizado, 0,5 g de mistura de K_2SO_4 com catalisadores (preparada com 200 g de K_2SO_4 + 25 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + 2,8105 g de SeO_2), 1 mL de peróxido de hidrogênio 300 mL L^{-1} e 2 mL de H_2SO_4 18 mol L^{-1} . Em cada tubo de digestão foram colocadas três pérolas de vidro e, na boca dos tubos, foi colocado um funil de vidro (25 mm de diâmetro) para garantir refluxo eficiente do líquido durante a digestão e restringir perdas de H_2SO_4 . Como a digestão é turbulenta, o aumento da temperatura foi gradual e o bloco foi inclinado para que as gotas que espirrassem

fossem recoletadas. O aumento de temperatura foi de 50 em 50°C a cada 30 minutos, até 300°C. Para finalização da digestão, a temperatura foi aumentada para 330°C e, após o clareamento dos extratos (verde claro), as amostras ainda foram mantidas a 330°C por mais 2h. Após o resfriamento, todo o extrato foi transferido, com auxílio de pequenas quantidades de água desionizada, para as câmaras de difusão. As paredes das câmaras foram lavadas com, aproximadamente, 5 mL de água desionizada e, em seguida, foram adicionados 10 mL de solução de NaOH 10 mol L⁻¹. A mistura foi homogeneizada e os frascos foram fechados, com intervalo máximo de 30 segundos entre a adição da solução de NaOH e o fechamento dos frascos. Os recipientes foram mantidos em chapa aquecedora por 4 h a 48-50°C. A determinação do N-NH₄⁺ seguiu o mesmo procedimento descrito para o N-NH₄⁺ hidrolisável.

e) N-não identificado (N-NI): essa forma foi calculada pela diferença entre o N-total hidrolisável e a soma das frações N-NH₄⁺ hid + N-AAç + N-Aa.

3.1.3. Determinação do N insolúvel em ácido (N-IA)

A determinação do N insolúvel em ácido (N-IA) foi feita no resíduo sólido retido no papel de filtro após a filtração do hidrolisado ácido. O resíduo foi seco ao ar durante 6 h e, depois, em estufa a 105°C por 1 h. Em seguida, foi mantido em dessecador por 30 min, pesado, retirado do papel, homogeneizado e reservado para determinação do N insolúvel em ácido, usando 1 g de resíduo seco, 1,5 g de K₂SO₄ + catalisadores, 1 mL de peróxido de hidrogênio 300 mL L⁻¹ e 2 mL de H₂SO₄ concentrado. A digestão foi feita como descrito para a fração N-total hidrolisável e a determinação de N-NH₄⁺ seguiu o mesmo procedimento descrito para o N-NH₄⁺ hidrolisável.

3.2. Determinação do N disponível pelo método da destilação a vapor direta (N-DVD)

O N orgânico potencialmente mineralizável foi determinado empregando o procedimento de destilação a vapor direta (N-DVD), proposto por Roberts et al. (2009), e descrito a seguir. Um grama de solo foi transferido para tubo macro (25 cm

de altura, 5 cm de diâmetro e volume de 500 mL), o qual foi conectado ao destilador (Tecnal TE 036/1) e recebeu 10 mL de solução de NaOH 10 mol L⁻¹. A mistura foi submetida à destilação até obtenção de 35-40 mL do destilado, o qual foi recebido em 10 mL de solução de H₃BO₃ 20 g L⁻¹. O N-NH₄⁺ foi quantificado por titulação do destilado com solução de H₂SO₄ 0,0055 mol L⁻¹ em titulador automático.

3.3. Forma de análise dos resultados

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F) e de regressão para avaliar os efeitos do tempo em cada fração do N, nas formas inorgânicas N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻, no N-DVD e nos demais atributos do solo (pH, C orgânico e N total). As diferenças decorrentes de cada solo ou da adubação com esterco bovino nas variáveis avaliadas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os teores de N-DVD foram correlacionados com as formas de N orgânico.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Atributos químicos dos solos

Os valores de pH aumentaram, em média, 6% com a aplicação de esterco no solo argiloso, e 9% no solo arenoso (Tabela 5). Este aumento pode ter ocorrido devido ao efeito de neutralização da acidez pelo carbonato de cálcio presente no esterco, que é encontrado em maiores concentrações em esterco de animais que receberam suplementação alimentar (YAN; SCHUBERT; MENGEL, 1996), como é o caso do esterco usado neste experimento. O aumento do pH pode também ter ocorrido devido à reação do H⁺ com ânions de ácidos orgânicos, no processo chamado descarboxilação, que ocorre durante a decomposição microbiana do material orgânico, e resulta no consumo de prótons H⁺ e na liberação de CO₂, resultando em aumento gradual do pH, à medida que os resíduos se decompõem (WHALEN et al., 2000). O aumento em maior intensidade no solo arenoso deve-se ao menor poder tampão deste solo, que implica em menor resistência a variação do pH.

Tabela 5. Valores de pH_{CaCl2}, e teores de C-orgânico, N-total e N potencialmente disponível (N-DVD) dos solos, em função da aplicação ou não de esterco bovino e do tempo de reação solo-adubo.

Esterco	Dias de Incubação	pH _{CaCl2}	C orgânico	N-total	N-DVD ⁽¹⁾
kg ha ⁻¹			g kg ⁻¹	-----mg kg ⁻¹ -----	
Solo Argiloso (LV)					
0	15	5,3	15,30	1111,05	99,855
	45	5,3	15,20	1060,96	103,28
	90	5,4	14,64	1050,45	114,58
	180	5,3	14,40	1026,85	93,81
Média		5,3b ⁽²⁾	14,89b	1062,33b	102,88a
20	15	5,6	16,79	1215,26	165,69
	45	5,7	17,11	1226,32	125,29
	90	5,7	17,11	1243,45	114,30
	180	5,3	16,02	1139,46	107,52
Média		5,6a	16,76a	1206,12a	128,20a
Média LV		5,4A	15,82A	1134,23A	115,54A
Solo Arenoso (PVA)					
0	15	4,8	12,48	722,71	69,65
	45	4,6	13,03	718,93	60,23
	90	4,6	12,91	734,17	74,03
	180	4,5	13,23	721,90	66,19
Média		4,6b	12,91b	724,43a	67,52a
20	15	5,1	14,33	768,90	89,63
	45	5,0	14,45	781,83	93,96
	90	5,1	14,28	740,24	95,92
	180	4,9	13,96	757,96	89,46
Média		5,0a	14,26a	762,23a	92,24a
Média PVA		4,8B	13,58B	743,33B	79,88B
Teste F ⁽³⁾					
Solo		741,57**	327,82**	685,90**	408,23**
Esterco		218,77**	169,18**	37,01**	200,96**
Tempo Incubação		13,01**	3,35*	1,60ns	16,26**
Solo x Esterco		6,9*	4,55*	12,61**	0,03ns
Solo x Tempo		3,74*	3,15*	1,25ns	13,66**
Esterco x Tempo		2,21ns	1,59ns	0,42ns	15,33**
Solo x Esterco x Tempo		4,45**	1,71ns	0,91ns	18,87**
CV (%) ⁽⁴⁾		1,76	3,36	6,36	7,22

⁽¹⁾ N-DVD: N potencialmente disponível avaliado pelo método da destilação a vapor direta

⁽²⁾ Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam aplicação ou não de esterco dentro de cada solo, e letras maiúsculas comparam solos.

⁽³⁾ ns, ** e *: não significativo, significativo a 1% e a 5%, respectivamente.

⁽⁴⁾ CV: coeficiente de variação.

Durante o período de incubação, o pH no solo argiloso aumentou até o 70º dia de incubação, seguido de diminuição, e no solo arenoso diminuiu de forma linear (Figura 5A). No solo argiloso, o aumento do pH no início da incubação pode ser explicado pelos efeitos de neutralização da acidez do carbonato de cálcio e da reação de descarboxilação dos ácidos orgânicos, já mencionados. Por outro lado, a diminuição do pH dos dois solos pode ser associada à mineralização do N orgânico, que produz H^+ no processo de nitrificação do NH_4^+ , uma vez que a diminuição do pH foi acompanhada pela diminuição de N orgânico e acúmulo de $N-NO_3^-$, como será comentado posteriormente. Durante a conversão de uma unidade de N orgânico em $N-NH_4^+$ (amonificação), é consumido um íon H^+ , mas durante a oxidação de NH_4^+ a NO_3^- (nitrificação), são gerados dois H^+ . Assim, ocorre a produção líquida de um íon H^+ na conversão de N orgânico em NO_3^- , e esta é a principal fonte de H^+ no solo (NARAMABUYE; HAYNES, 2007).

A diferença de comportamento entre os solos arenoso e argiloso (diminuição de pH desde o início ou a partir de 70 dias de incubação) pode ser explicada pela taxa de decomposição do resíduo em cada solo. Considerando que os três processos, solubilização de carbonatos, descarboxilação e nitrificação ocorrem simultaneamente, o aumento ou diminuição no valor de pH resulta do balanço entre consumo e liberação de H^+ . O solo arenoso, mais aerado, favorece a mineralização e, por isso, houve produção líquida de H^+ desde as fases iniciais da decomposição do esterco, enquanto no solo argiloso o processo passou a predominar a partir dos 70 dias.

Houve maiores teores de C orgânico no solo argiloso em relação ao solo arenoso, na média das doses de esterco e dos tempos de incubação (Tabela 5). O aumento médio foi de 16,5% no C orgânico e de 52,6% no N-total. Do mesmo modo, os teores de N extraído usando o método da DVD, o N-mineral, o $N-NO_3^-$ e o N-orgânico foram maiores no solo argiloso em relação ao arenoso, em média, 45%, 41%, 55% e 54% respectivamente (Tabelas 5 e 6). A textura é um dos principais fatores que interfere na formação da MO no solo, de modo que nos argilosos ocorrem condições mais favoráveis ao acúmulo, enquanto nos arenosos tem-se maior atividade decompositora dos microrganismos, o que resulta em maior oxidação de compostos orgânicos, inclusive dos nitrogenados (ZECH et al., 1997).

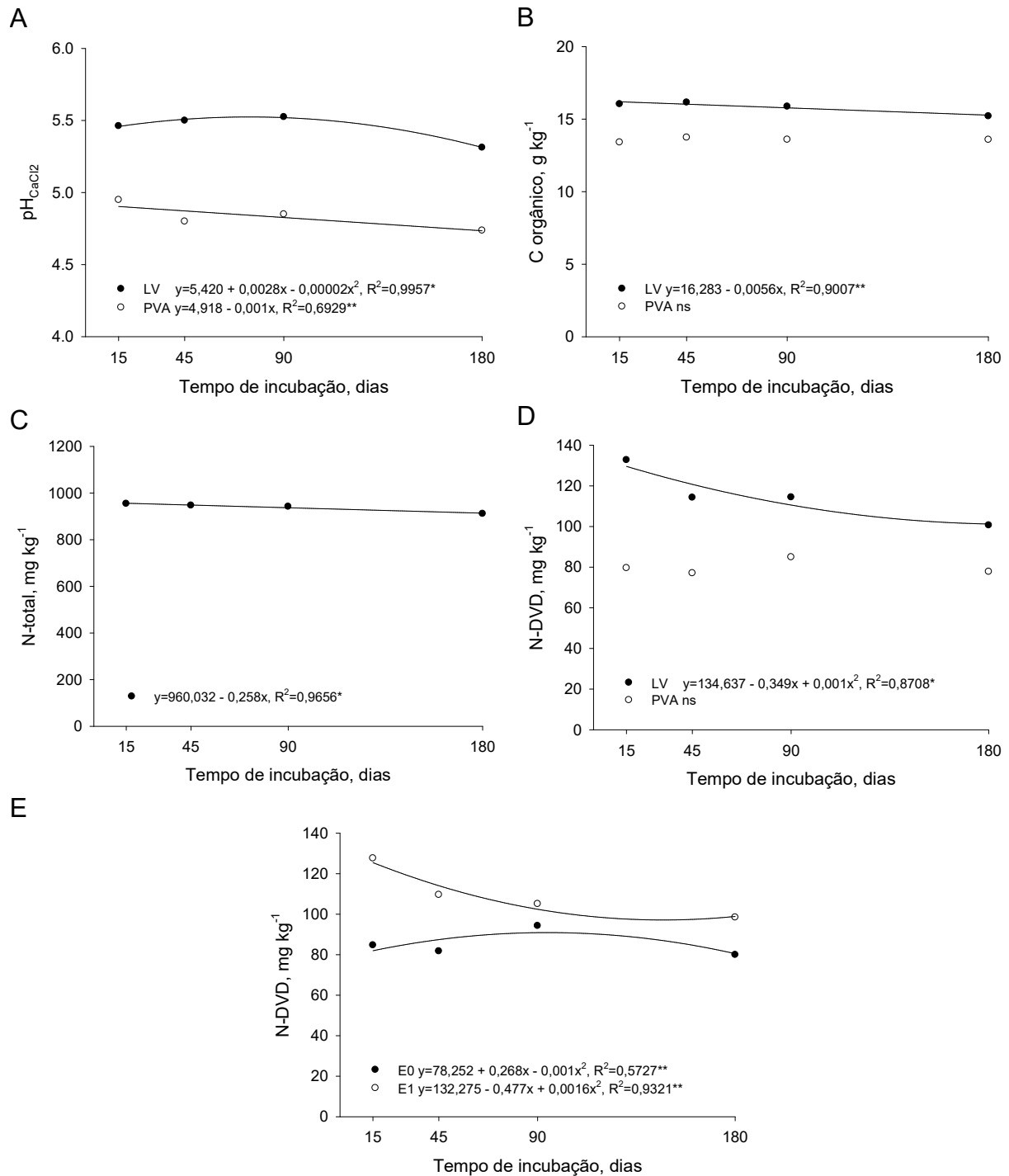


Figura 5. Valores de pH (A), C orgânico (B), N-total (C) e N-DVD (D e E) no Latossolo Vermelho e no Argissolo Vermelho Amarelo, em função da aplicação ou não de esterco bovino e do tempo de reação solo-adubo. E0: sem aplicação de esterco; E1: aplicação de 20 t ha⁻¹ de esterco bovino; LV: Latossolo Vermelho; PVA: Argissolo Vermelho-Amarelo.

Os teores de N-NH₄⁺, de modo oposto ao que foi observado com as outras variáveis, foram maiores no solo arenoso, em média, 14% (Tabela 6). Neste solo,

houve diminuição do pH com o tempo de incubação, para valores que podem ter desfavorecido a nitrificação, com consequente acúmulo de N-NH_4^+ . Em experimento feito com 10 solos, o nitrato foi altamente e positivamente correlacionado com o pH, e nos solos com valores de pH entre 3,4 e 4,4 não houve nitrificação, durante quatro semanas de incubação (SAHRAWAT, 1982).

Com a aplicação de esterco, os teores de C orgânico aumentaram, em média, 12,5% no solo argiloso e 13,1% no solo arenoso (Tabela 5). Este aumento no teor de C orgânico do solo é uma das finalidades das adubações orgânicas (WHALEN et al., 2000; YAGI et al., 2003) que, somada ao fornecimento de nutrientes a partir da mineralização, torna a prática muito importante para o manejo dos solos agrícolas. Com o aumento do tempo de incubação, o C orgânico diminuiu de forma linear no solo argiloso, e não foi alterado no solo arenoso (Figura 5B). A diminuição do C em um sistema que recebeu adubação orgânica é esperada porque a liberação de CO_2 para atmosfera ocorre durante todo o processo de decomposição microbiana do material orgânico e da matéria orgânica do solo (STEVENSON, 1986), e desde que haja condições de umidade e temperatura favoráveis, ela é um processo contínuo. No solo argiloso, o teor de C orgânico no final da incubação retornou à condição inicial (Tabela 1), porque, provavelmente, nas primeiras avaliações, ao C do solo foi somado C do esterco.

Na média dos tempos de incubação, a aplicação de esterco resultou em aumento nos teores de N-total no solo argiloso (+13,5%), e não houve alteração no solo arenoso (Tabela 5), mas do tempo 0 para o tempo 180 dias de incubação, o N-total diminuiu de forma linear nos dois solos (Figura 5C). A diminuição do N-total está associada à conversão de N orgânico em N-NO_3^- , uma vez que houve acúmulo de nitrato com o aumento do tempo de incubação, e o NO_3^- não foi quantificado pelo método utilizado para determinar o N-total. Em ambientes abertos, com cultivo de plantas, o NO_3^- seria facilmente absorvido ou perdido, mas no sistema avaliado, ele acumulou.

Tabela 6. Teores de N-mineral, N-NH_4^+ , N-NO_3^- e N-orgânico, em função da aplicação ou não de esterco bovino e do tempo de reação solo-adubo.

Esterco	Dias de Incubação	N-mineral	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₃ ⁻	N-orgânico
kg ha ⁻¹		-----mg kg ⁻¹ -----			
Solo Argiloso (LV)					
0	15	82,20	15,57	66,63	1028,85
	45	87,27	12,36	74,90	973,69
	90	86,00	11,27	74,73	964,45
	180	97,66	10,15	87,52	929,18
Média		88,28a	12,34a	75,95a	974,04b
20	15	81,78	12,45	69,33	1133,48
	45	85,80	11,40	74,40	1140,52
	90	91,08	10,30	80,78	1152,37
	180	121,73	12,68	109,05	1017,73
Média		95,10a	11,71a	83,39a	1111,02a
Média LV		91,69A	12,02B	79,67A	1042,53A
Solo Arenoso (PVA)					
0	15	50,84	17,61	33,23	671,90
	45	59,32	12,57	46,74	659,60
	90	51,17	10,96	40,20	683,00
	180	75,39	10,54	64,85	646,52
Média		59,18a	12,92b	46,26a	665,26a
20	15	67,22	21,03	46,20	701,67
	45	76,01	15,30	60,70	705,82
	90	61,81	11,15	50,65	678,45
	180	77,92	10,75	67,17	680,00
Média		70,74a	14,56a	56,18a	691,49a
Média PVA		64,96B	13,74A	51,22B	678,37B
Teste F ⁽²⁾					
Solo		291,55**	38,37**	343,90**	589,81**
Esterco		34,44**	3,29ns	32,05**	29,62**
Tempo Incubação		43,09**	93,54**	60,87**	3,70*
Solo x Esterco		2,30ns	16,71**	0,65ns	13,64**
Solo x Tempo		4,90**	23,09**	3,05*	1,52ns
Esterco x Tempo		0,77ns	1,97ns	0,54ns	0,50ns
Solo x Esterco x Tempo		8,64**	11,51**	6,00**	1,03ns
CV (%) ⁽³⁾		7,99	8,61	9,38	6,97

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam aplicação ou não de esterco dentro de cada solo, e letras maiúsculas comparam solos.

⁽²⁾ ns, ** e *: não significativo, significativo a 1 % e a 5%, respectivamente.

⁽³⁾ CV: coeficiente de variação.

A aplicação de esterco aumentou, em média, 12,7% os teores de N-NH_4^+ no solo arenoso, mas não houve alteração no N-NH_4^+ no solo argiloso. No N-NO_3^- e no

N-mineral ($\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-$) não houve aumento em nenhum dos solos (Tabela 6). Como o esterco apresentou concentrações altas de formas de N mais recalcitrantes e apenas 6% de N-NH_4^+ hidrolisável e 13% de N-aminoaçúcares (Tabela 4), é esperado que a disponibilização do N ocorra de forma mais lenta.

O efeito do tempo de incubação foi igual nos dois solos, com aumento do N-mineral (Figura 6A) e acúmulo de N-NO_3^- (Figura 6C) durante todo o período de incubação, e diminuição do N-NH_4^+ até próximo dos 130 dias (Figura 6B), devido à conversão de amônio em nitrato, durante a mineralização.

Com a aplicação de esterco o N-orgânico aumentou, em média, 14% no solo argiloso (Tabela 6), pois grande parte do N presente no esterco já estava na forma de N orgânico, 98% (Tabela 3). No solo arenoso, a aplicação de esterco não alterou o N-orgânico (Tabela 6). Durante o período de incubação, o N-orgânico diminuiu de forma linear nos dois solos (Figura 6D), devido a mineralização do N.

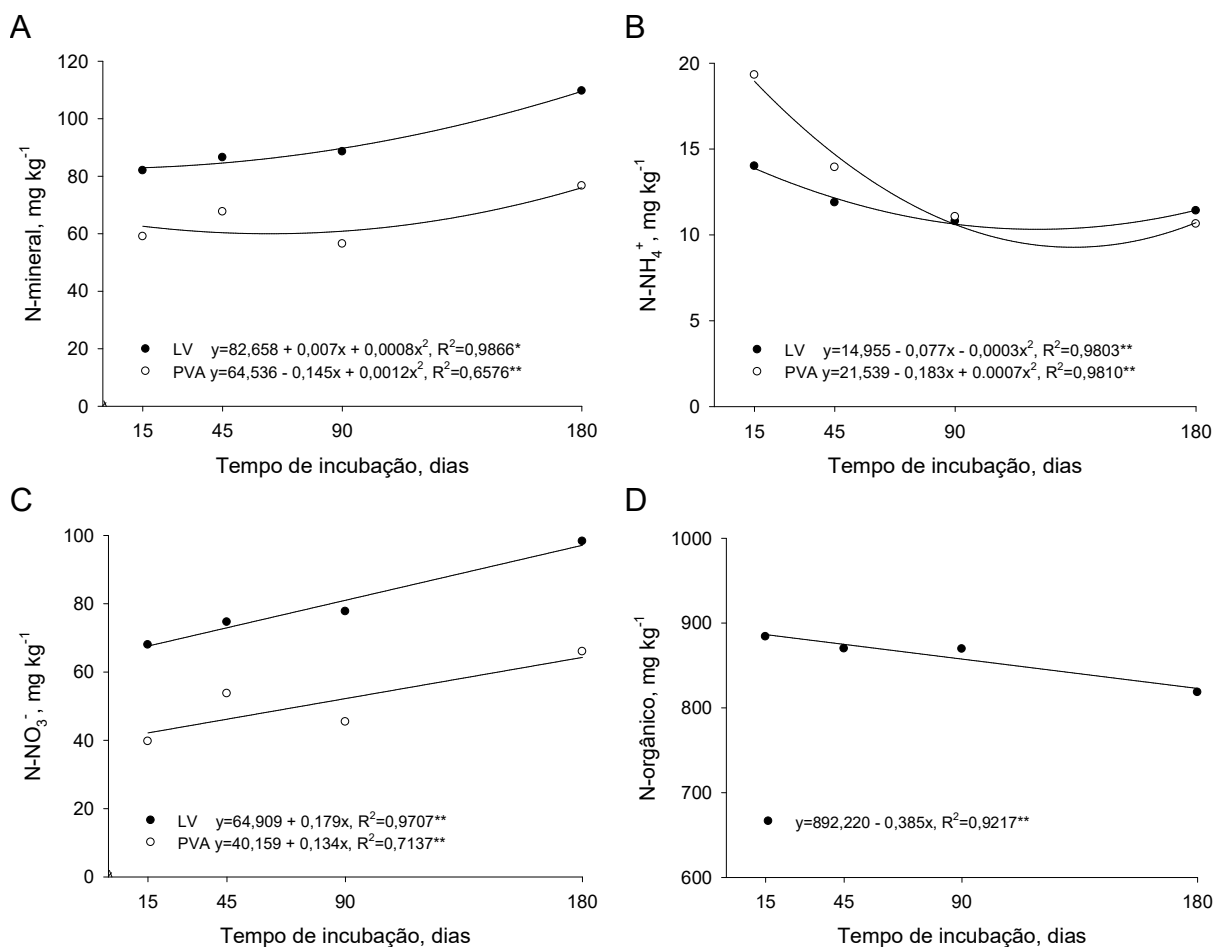


Figura 6. N-mineral (A), N-NH_4^+ (B), N-NO_3^- (C) e N-orgânico (D) no Latossolo Vermelho (LV) e no Argissolo Vermelho-Amarelo (PVA), em função do tempo de incubação solo-esterco bovino.

Os teores de N potencialmente disponível avaliados pelo método DVD (N-DVD) não foram alterados com a aplicação de esterco (Tabela 5). O N-DVD no solo argiloso, na média das doses de esterco, apresentou comportamento quadrático ao longo do período de incubação, com diminuição do teor até o 175º dia (Figura 5D). Com a aplicação de esterco, o comportamento do N-DVD, na média dos solos, diminuiu até o 149º dia de incubação, e sem a aplicação do esterco, aumentou até o 134º dia (Figura 5E). O N-DVD corresponde ao N nas formas de NH_4^+ , de aminoaçúcares e de alguns aminoácidos, estes em menor quantidade (ROBERTS et al., 2009). Deste modo, o aumento ou diminuição do N-DVD deve estar associado, em princípio, ao aumento ou diminuição das formas de N citadas. O método de destilação a vapor direta foi proposto como alternativa mais rápida e fácil a outros métodos que quantificam a fração N-aminoaçúcares, que é aceita como a principal fonte de N potencialmente mineralizável para as culturas. Este método foi usado, no presente trabalho, como referência de N disponível.

4.2. Formas de N orgânico nos solos

O N nas frações aminoaçúcares, aminoácidos, total hidrolisável e insolúvel em ácido foi maior no solo argiloso em relação ao arenoso, em média, 74%, 1.048%, 23% e 154% (Tabela 7). Apenas as frações N-NH_4^+ hidrolisável e N-não identificado foram maiores no solo arenoso em relação ao argiloso, em média, 15% e 25%, respectivamente (Tabela 7). Como os solos arenosos apresentam maior aeração e menor proteção física das substâncias orgânicas em microagregados, a atividade decompositora dos microrganismos é maior (ROS et al., 2011), e o N acumula mais na forma de NH_4^+ hidrolisável.

A fração N-não identificado já era maior no solo arenoso do que do solo argiloso na análise inicial, antes da aplicação dos tratamentos (Tabela 3). Deste modo, ainda com base na maior atividade decompositora neste solo, o N pode ter acumulado mais nesta fração, que é de menor recalcitrância em relação ao N-insolúvel em ácido, que foi maior na análise inicial do solo argiloso (Tabela 3).

Tabela 7. Teores de N-NH_4^+ hidrolisável, N-aminoaçúcares, N-aminoácido, N-não identificado, N-total hidrolisável e N-insolúvel em ácido dos solos, em função da aplicação ou não de esterco bovino e do tempo de reação solo-adubo.

Esterco kg ha^{-1}	Dias de Incubação	N-NH_4^+ Hidrolisável	N-AAç ⁽¹⁾	N-Aa	N-NI	N-total Hidrolisável	N-IA
-----mg kg ⁻¹ -----							
Solo Argiloso (LV)							
0	15	86,72	279,55	80,08	174,32	620,68	170,55
	45	74,28	263,09	92,49	167,03	596,90	209,66
	90	76,28	255,52	72,44	119,21	523,45	209,59
	180	57,36	277,45	70,24	168,92	573,98	192,22
Média		73,66b ⁽²⁾	268,90b	78,81b	157,37b	578,75b	195,50a
20	15	78,91	300,87	55,62	406,41	841,81	217,03
	45	92,85	294,54	55,48	316,24	759,10	204,43
	90	99,35	283,55	183,99	236,07	802,97	214,82
	180	88,60	309,35	104,96	296,80	799,72	196,29
Média		89,93a	297,08a	100,01a	313,88a	800,90a	208,14a
Média LV		81,80B	282,99A	89,41A	235,63B	689,83A	201,82A
Solo Arenoso (PVA)							
0	15	74,85	175,17	2,36	214,57	466,95	99,10
	45	79,03	170,75	7,77	314,02	571,33	60,79
	90	69,12	173,96	1,43	304,07	548,22	61,41
	180	86,195	171,65	7,33	262,44	527,62	72,94
Média		77,30b	172,88a	4,72a	273,78b	528,53b	73,56a
20	15	115,36	148,35	4,53	326,82	594,90	78,00
	45	109,50	155,26	15,40	309,26	589,42	102,64
	90	123,57	138,81	11,50	323,59	597,47	85,93
	180	98,22	164,89	12,00	311,70	586,82	75,04
Média		111,66a	151,83b	10,86a	317,84a	592,15a	85,40a
Média PVA		94,48A	162,36B	7,79B	295,81A	560,34B	79,48B
Teste F ⁽³⁾							
Solo		48,42**	1289,98**	590,61**	49,73**	249,17**	1782,43**
Esterco		192,81**	1,12ns	16,56**	138,10**	303,41**	17,84**
Tempo Incubação		4,77**	5,17**	16,33**	3,53*	0,55ns	2,46ns
Solo x Esterco		24,63**	53,70**	5,03*	43,40**	93,37**	0,02ns
Solo x Tempo		1,61ns	1,19ns	16,92**	14,06**	9,37**	5,64**
Esterco x Tempo		6,91**	1,41ns	27,18**	8,15**	5,26**	1,27ns
Solo x Esterco x Tempo		15,80**	0,58ns	24,00**	0,90ns	3,00*	17,76**
CV (%) ⁽⁴⁾		8,27	6,03	27,64	12,85	5,25	8,24

⁽¹⁾ N-AAç: N-aminoaçúcares; N-Aa: N-aminoácidos; N-NI: N-não identificado; N-IA: N-insolúvel em ácido.

⁽²⁾ Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam aplicação ou não de esterco dentro de cada solo, e letras maiúsculas comparam solos.

⁽³⁾ ns, ** e *: não significativo, significativo a 1 % e a 5%, respectivamente.

⁽⁴⁾ CV: coeficiente de variação.

Os teores de N-NH_4^+ hidrolisável aumentaram, em média, 22,1% com a aplicação de esterco no solo argiloso, e 44,5% no solo arenoso (Tabela 7). Esta

fração representa o reservatório mais instável de N do solo e aquele que, somado a outras frações de labilidade intermediária, particularmente N-aminoaçúcares, está mais associado à disponibilidade (BUSHONG et al., 2008; OTTO et al., 2013). O N-NH₄⁺ hidrolisável é predominantemente originado da decomposição de compostos orgânicos lábeis, de NH₄⁺ trocável e de NH₄⁺ fixado em argilas, e representa um reservatório de N de liberação rápida para plantas e microrganismos (QIU et al., 2012; LÜ et al., 2013). O N-NH₄⁺ hidrolisável que foi quantificado nas amostras analisadas deve estar particularmente associado à hidrólise de compostos orgânicos, uma vez que, o N-NH₄⁺ fixado não é uma forma abundante em solos tropicais devido ao predomínio de caulinita, e o NH₄⁺ trocável é pouco abundante porque em ambientes aerados é rapidamente convertido em NO₃⁻ (HAVLIN et al., 2005).

Durante o período de incubação, o comportamento do N-NH₄⁺ hidrolisável nos solos sem aplicação do esterco foi de diminuição linear (Figura 7A), devido à conversão de NH₄⁺ em NO₃⁻. Com a aplicação de esterco, o N-NH₄⁺ hidrolisável aumentou até os 95 dias de incubação (Figura 7A), devido à liberação de compostos orgânicos mais lábeis. A fase inicial do ataque microbiano aos resíduos orgânicos é caracterizada por perdas rápidas de substâncias orgânicas prontamente decomponíveis, e dependendo da natureza da microflora do solo e da quantidade de C (e N) no substrato, de 10 a 70% do C podem ser utilizados para síntese celular (STEVENSON, 1986). Proteínas e compostos bioquímicos simples, como açúcares e aminoácidos, decompõem rapidamente, enquanto paredes celulares e certas melaninas microbianas resistem à decomposição (STEVENSON, 1986).

O aumento de N-NH₄⁺ hidrolisável persistiu até os 95 dias de incubação, seguido de diminuição. Esta diminuição pode ser associada ao favorecimento do processo de imobilização de N devido à disponibilização de N do esterco, o qual é utilizado pelos microrganismos para formação de tecido microbiano.

Os teores de N-aminoaçúcares aumentaram, em média, 10,5% com a aplicação de esterco no solo argiloso, mas no solo arenoso houve diminuição, em média, de 13,8% (Tabela 7). A concentração de N-aminoaçúcares tende a ser maior em solos com aplicação de esterco, como ocorreu no solo argiloso, e em solos com cultivo ou rotação de cultura com leguminosa (MULVANEY et al., 2001). Esse

acúmulo pode ser atribuído à proliferação microbiana causada pela aplicação do resíduo, uma vez que os aminoaçúcares ocorrem em maior concentração em material de parede celular de bactérias, actinomicetos e fungos (PARSONS, 1981), e em menor concentração em plantas (SHARON, 1974). Os produtos mais simples, como açúcares, aminoácidos, compostos fenólicos e outros que resultam da decomposição do resíduo orgânico são utilizados pelos microrganismos para a produção de células microbianas, que também serão degradadas após a morte dos microrganismos (STEVENSON, 1986).

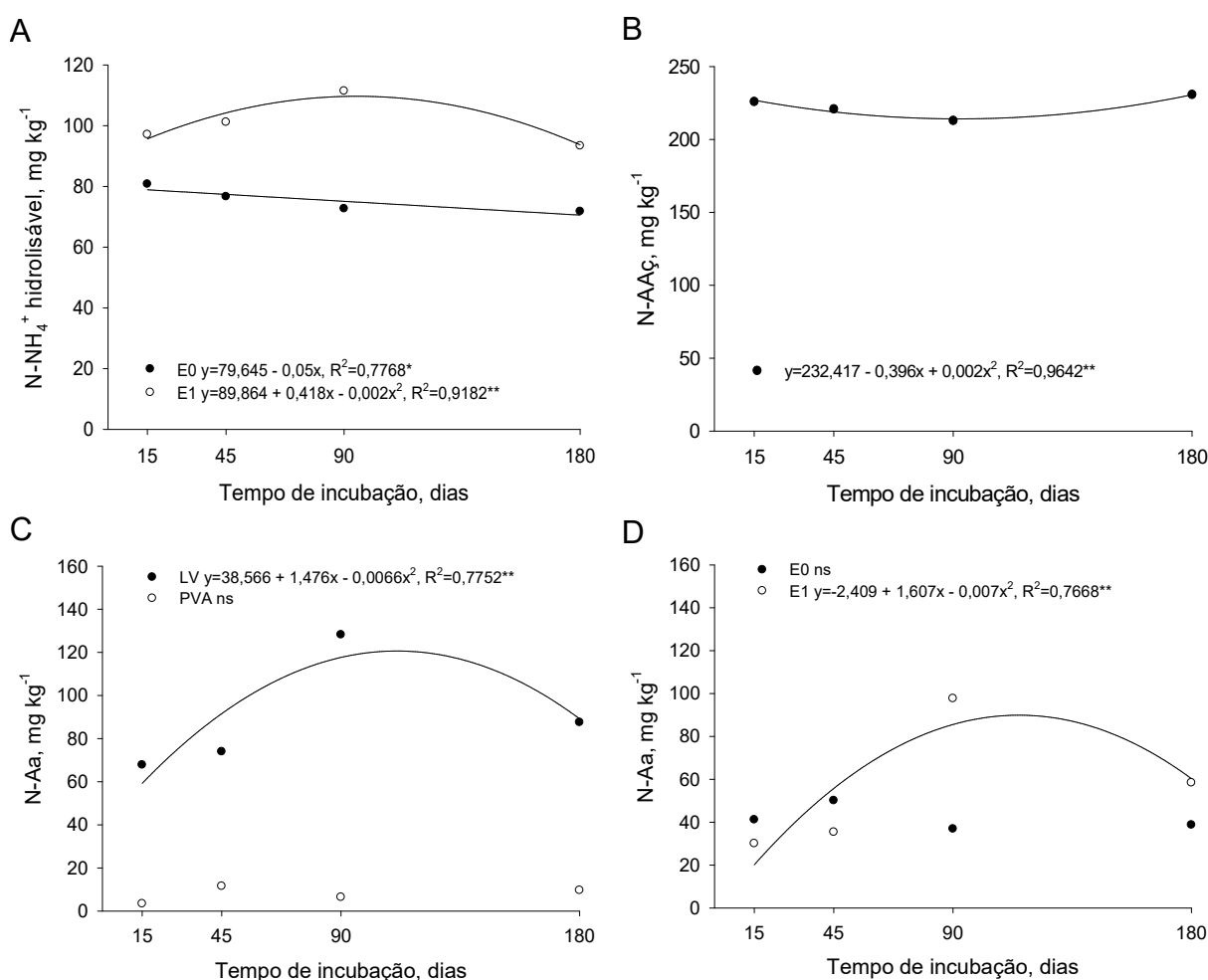


Figura 7. Frações de N orgânico do Latossolo Vermelho (LV) e do Argissolo Vermelho Amarelo (PVA) em função da aplicação de esterco bovino e do tempo de reação solo-adubo. E0: sem aplicação de esterco; E1: aplicação de 20 t ha⁻¹ de esterco bovino.

A diminuição do teor de N-aminoaçúcares com a aplicação do esterco no solo arenoso pode estar relacionada ao menor valor de pH deste solo, o que favorece a

adsorção de enzimas extracelulares às argilas, causando diminuição na atividade enzimática. As enzimas extracelulares são liberadas por fungos e bactérias e atuam na quebra de moléculas orgânicas complexas em compostos menores, que só então são utilizados para síntese de tecido microbiano. Em valores de pH menores que 5,0 a atividade destas enzimas diminui linearmente até pH 2,0, quando a atividade cessa (QUIQUAMPOIX et al., 1993), resultando em menor decomposição do material orgânico e, assim, menor síntese de células microbianas, que concentram aminoaçúcares.

O teor de N-aminoaçúcares diminuiu até os 99 dias e depois aumentou com o tempo de incubação (Figura 7B). Este comportamento foi inverso ao ocorrido com o N-NH_4^+ hidrolisável. Inicialmente proteínas e compostos bioquímicos simples, como açúcares e aminoácidos, decompõem rapidamente (STEVENSON, 1986), diminuindo os teores de N-aminoaçúcares e aumentando os de N-NH_4^+ hidrolisável. Após 95-99 dias de incubação esse aumento da disponibilização de N estimula o crescimento microbiano, favorecendo o processo de imobilização de N, com diminuição do N-NH_4^+ hidrolisável e aumento do N-aminoaçúcares.

A fração N-aminoaçúcares é de degradação intermediária entre o N-NH_4^+ hidrolisável, que é mais lábil, e o N-aminoácidos, que é menos lábil (OTTO et al., 2013), e é a fração que melhor diferencia solos cultivados com milho quanto ao potencial de resposta à adubação nitrogenada (MULVANEY et al., 2001). Estes autores utilizaram 18 solos dos Estados Unidos cultivados em diferentes sistemas de manejo, e determinaram que solos com teores de N-AAç maiores que 250 mg kg^{-1} eram não responsivos, enquanto solos com menos do que 200 mg kg^{-1} eram responsivos à adubação nitrogenada. Desta maneira, a mineralização de compostos desta fração aumenta o fornecimento de N mineral para plantas, e resulta em não resposta ao fertilizante nitrogenado. Utilizando estes valores como critério de diferenciação para o presente trabalho, o solo argiloso é classificado como não responsivo, e o solo arenoso, como responsivo à adubação nitrogenada.

Os teores de N-aminoácidos aumentaram, em média, 26,9% com a aplicação de esterco no solo argiloso, e 130% no solo arenoso (Tabela 7). O aumento do N-aminoácidos com a aplicação do esterco ocorreu devido à decomposição do material orgânico pelos microrganismos, como foi observado na fração N-aminoaçúcares. Os

microrganismos utilizam o C e o N do resíduo para produção de células microbianas, com a síntese de aminoaçúcares e aminoácidos (STEVENSON, 1986), o que resulta no aumento destas formas de N no solo. Aumento dos teores de N-aminoácidos também foi obtido com a aplicação ao solo de outros materiais orgânicos, e o aumento foi associado ao favorecimento do crescimento da população microbiana. Como exemplos tem-se o aumento dos teores de aminoácidos como a glucosamina e o ácido murâmico devido à manutenção dos restos culturais da cultura anterior no sistema de plantio direto (GUGGENBERGER et al., 1999), e a conversão do N fornecido pela adubação orgânica com esterco bovino e suíno principalmente em N-aminoácidos (HUANG et al., 2009).

O N-aminoácidos aumentou até o 112º dia de incubação no solo argiloso (Figura 7C), e até o 115º dia com a aplicação de esterco, seguidos de diminuição (Figura 7D). O aumento dos teores de N-aminoácidos durante mais da metade do período de incubação deve-se a tendência de acúmulo desta fração por ser estável no solo (OTTO et al., 2013). Uma possível explicação para a estabilidade e tendência de acúmulo desta fração, é a possibilidade de alguns aminoácidos como a histidina desenvolverem cargas positivas em meio ácido, o que favoreceria a adsorção dos aminoácidos às cargas negativas dos componentes da fração argila (WERDIN-PFISTERER et al., 2009).

Por outro lado, o reservatório de aminoácidos na solução do solo é extremamente transitório, variando em mais de 20 vezes no dia (JONES; KIELLAND, 2002). Deste modo, a limitação à disponibilidade de N de fontes orgânicas no solo não se deve propriamente aos aminoácidos, mas sim às transformações de proteínas ou outras macromoléculas maiores no solo, que devem ser primeiramente divididas em compostos menores como peptídeos e em seguida aminoácidos, que só então podem ser usados pelos microrganismos para síntese microbiana. Além disso, na fração N-aminoácidos também são quantificadas proteínas e peptídeos intimamente associados e protegidos por materiais húmicos e constituintes inorgânicos do solo, tais como minerais de argila e óxidos de ferro e de alumínio (SCHULTEN; SCHNITZER, 1998), que limitam a disponibilização de N-aminoácidos.

A diminuição de N-aminoácidos que ocorreu depois de 112 dias de incubação no solo argiloso, e 115 dias com a aplicação de esterco, pode ser atribuída a um

aumento da indisponibilização do N para formas mais recalcitrantes como N-não identificado, que aumentou após este período nas mesmas situações, no solo argiloso e com aplicação do esterco.

Os teores de N-não identificado dobraram com a aplicação de esterco no solo argiloso, e aumentaram 16,1% no solo arenoso (Tabela 7). Este aumento ocorreu, pois o esterco apresentou grande quantidade de N-não identificado, que representou mais da metade do N total obtido pela soma das frações N-NH_4^+ hidrolisável, N-aminoaçúcares, N-aminoácidos, N-não identificado e N-insolúvel em ácido do esterco (Tabela 3). Nesta fração estão contabilizados compostos hidrolisáveis, como vestígios de ácidos nucleicos e outros produtos bioquímicos nitrogenados que não são identificados por necessitarem de técnicas específicas para sua separação e identificação, e que apresentam maior dificuldade de degradação entre as frações hidrolisáveis.

O N-não identificado diminuiu até o 116º dia de incubação no solo argiloso e aumentou até o 100º dia no solo arenoso (Figura 8A). A aplicação de esterco causou diminuição dos teores de N-NI até o 117º dia de incubação, na média dos dois solos, seguido de aumento até o 180º dia (Figura 8B). Com a aplicação de esterco ao solo, o N que está na forma não identificado começa a ser decomposto pelos microrganismos, o que diminui seu teor e aumenta o teor da fração N-aminoácidos até próximo dos 117 dias de incubação. Após o 117º dia de incubação, com a maior disponibilidade de nutrientes, o crescimento da população de microrganismos é favorecido e há a formação de compostos nitrogenados de mais difícil degradação, que resultam em aumento do N-não identificado e diminuição do N-aminoácidos.

Neste trabalho, o N contabilizado em compostos conhecidos (NH_4^+ hidrolisável + aminoaçúcares + aminoácidos) foi, em média, equivalente a dois quintos do N total determinado, que quantifica o N orgânico mais o NH_4^+ . Em muitos solos, apenas um sexto do N orgânico é contabilizado em compostos conhecidos (STEVENSON, 1996).

Os teores de N-total hidrolisável aumentaram, em média, 38,4% com a aplicação de esterco no solo argiloso, e 12,0% no solo arenoso (Tabela 7). Esta fração reflete o aumento ocorrido na média das frações hidrolisáveis. Durante a incubação, o N-total hidrolisável diminuiu até o 108º dia no solo argiloso e aumentou

até o 115º dia no solo arenoso, seguido de inversão do sentido da curva (Figura 8C). A utilização combinada de fertilizantes inorgânicos (NPK) e adubos orgânicos por Durani, Brar e Dheri (2016), aumentou todas as frações hidrolisáveis de N (N-NH_4^+ hidrolisável, N-aminoaçúcares, N-aminoácido e N-não identificado), o que refletiu no aumento do N-total hidrolisável do solo, como observado no presente experimento.

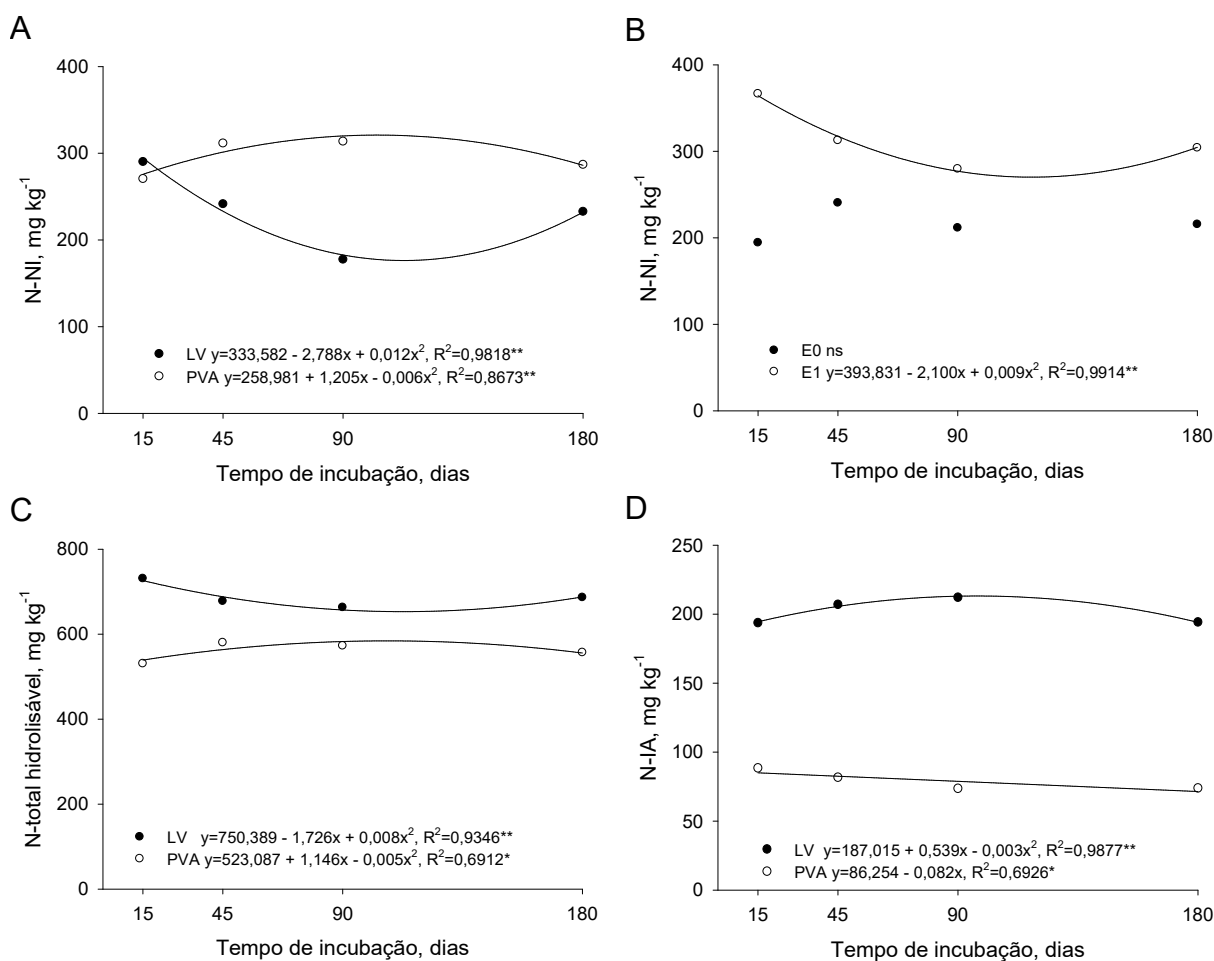


Figura 8. Frações de N orgânico dos dois solos em função da aplicação ou não de esterco bovino e do tempo de reação solo-adubo. E0: sem aplicação de esterco; E1: aplicação de 20 t ha^{-1} de esterco bovino; LV: Latossolo Vermelho; PVA: Argissolo Vermelho-Amarelo.

Os teores de N-insolúvel em ácido não foram alterados com a aplicação de esterco (Tabela 7). Esta fração corresponde ao N orgânico resistente a hidrólise ácida e de natureza não proteica (SCHNITZER; HINDLE, 1981), que muitas vezes não é determinado nos esquemas de fracionamento, e fica agrupado com outros compostos não identificados. Ela é considerada o produto resultante da

condensação de aminoácidos com açúcares redutores durante a hidrólise, mas acredita-se também que essa forma de N ocorra como componente estrutural de substâncias húmicas (STEVENSON, 1982). Nesta fração estão formas mais recalcitrantes, como compostos derivados do benzeno e formas peptídicas refratárias que não são hidrolisadas (SCHULTEN; SCHNITZER, 1998).

O N-insolúvel em ácido aumentou até o 90º dia de incubação no solo argiloso e diminuiu de forma linear no solo arenoso, no intervalo avaliado de 180 dias (Figura 8D). Em experimento utilizando ureia combinada com composto orgânico feito com palha de arroz e esterco de frango, Latifah, Ahmed e Majid (2017) também obtiveram diminuição do N-IA aos 90 dias de incubação, o que sugere que esta fração pode ser degradada microbiologicamente para formas de N mais simples, tais como aminoácidos e aminoaçúcares, que mais adiante são convertidos em formas minerais, disponíveis.

4.3. Proporções das formas de N orgânico nos solos

No N total hidrolisável havia 7 a 18% de N-NH_4^+ hidrolisável, 20 a 36% de N-aminoaçúcares, 0 a 18% de N-aminoácidos, e de 16 a 50% de N-não identificado (Figuras 9A e 9B). O N-insolúvel em ácido variou entre 10 e 29% (Figuras 9A e 9B). As proporções das frações de N foram diferentes entre os solos, com maior contribuição do N-aminoaçúcares, de 28 a 36%, do N-aminoácidos, de 5 a 18%, e do N-insolúvel em ácido, de 20 a 29%, no solo argiloso (Figura 9A), e do N-NH_4^+ hidrolisável, de 11 a 18% e do N-não identificado, de 38 a 50%, no solo arenoso (Figura 9B).

A aplicação do esterco bovino diminuiu a proporção de N-aminoaçúcares e de N-insolúvel em ácido, e aumentou a de N-não identificado no solo argiloso (Figura 9A). No solo arenoso a aplicação de esterco aumentou a proporção de N-NH_4^+ hidrolisável e, como no solo argiloso, diminuiu a de N-aminoaçúcares (Figura 9B).

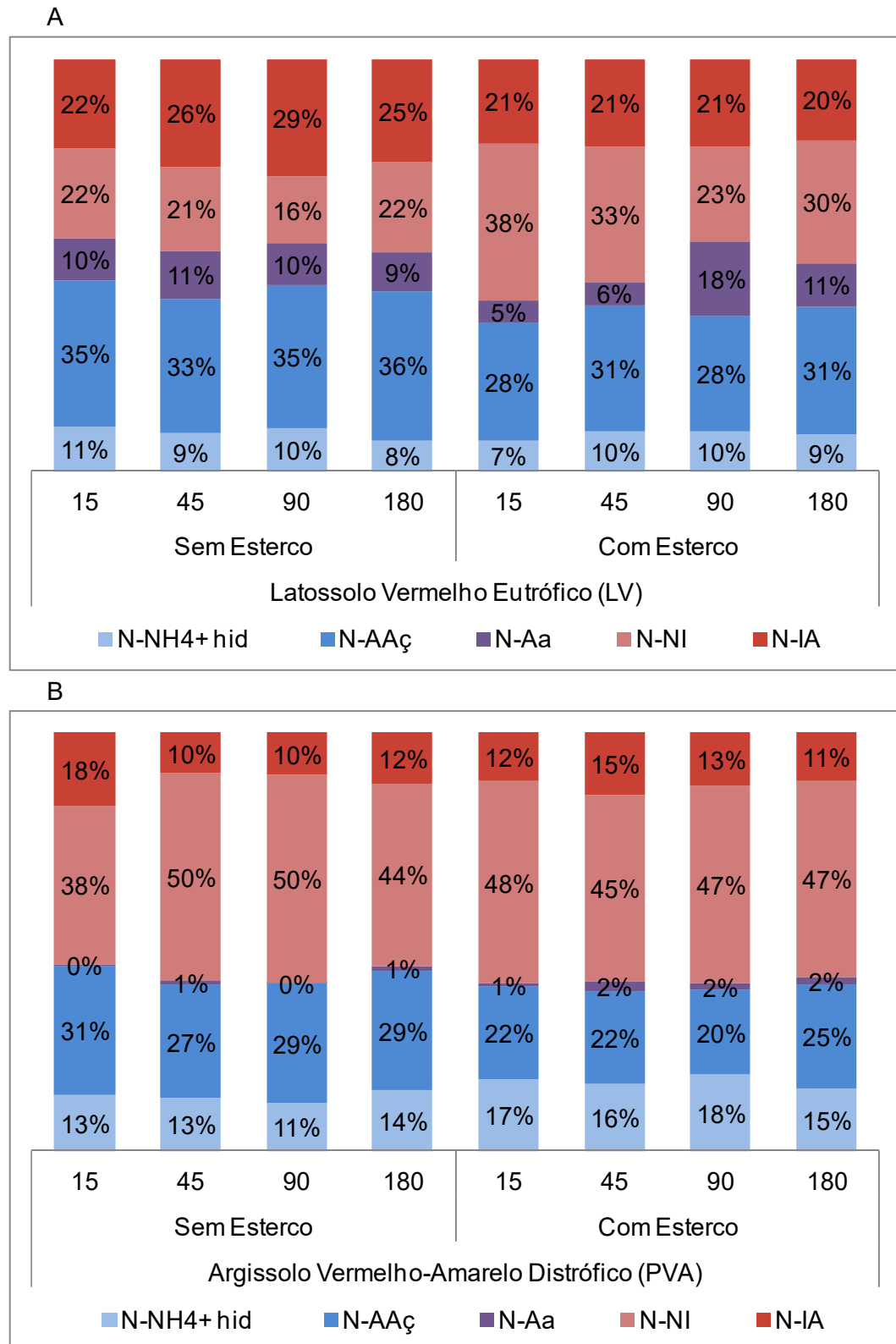


Figura 9. Porcentagem das frações de N em relação ao N total obtido por soma das frações, em função do tempo de incubação, da aplicação de esterco bovino em dois solos. N-NH₄⁺ hid: N-NH₄⁺ hidrolisável; N-AAç: N-aminoaçúcares; N-Aa: N-aminoácidos; N-NI: N-não identificado; N-IA: N-insolúvel em ácido.

4.4. Análise conjunta dos efeitos do esterco, da textura dos solos e do tempo de incubação nas frações de N orgânico

Avaliando de forma conjunta as frações de N orgânico na média dos dois solos sem a aplicação do esterco, observa-se que no período de 15 até aproximadamente 100 dias de incubação, houve mineralização do N-aminoaçúcares, e aumento do grau de estabilização das formas de N do solo, com diminuição do N-aminoácidos e aumento do N-não identificado (Figura 10). Após os 100 dias, até o final da incubação, houve imobilização do N com aumento de N-aminoaçúcares (Figura 10).

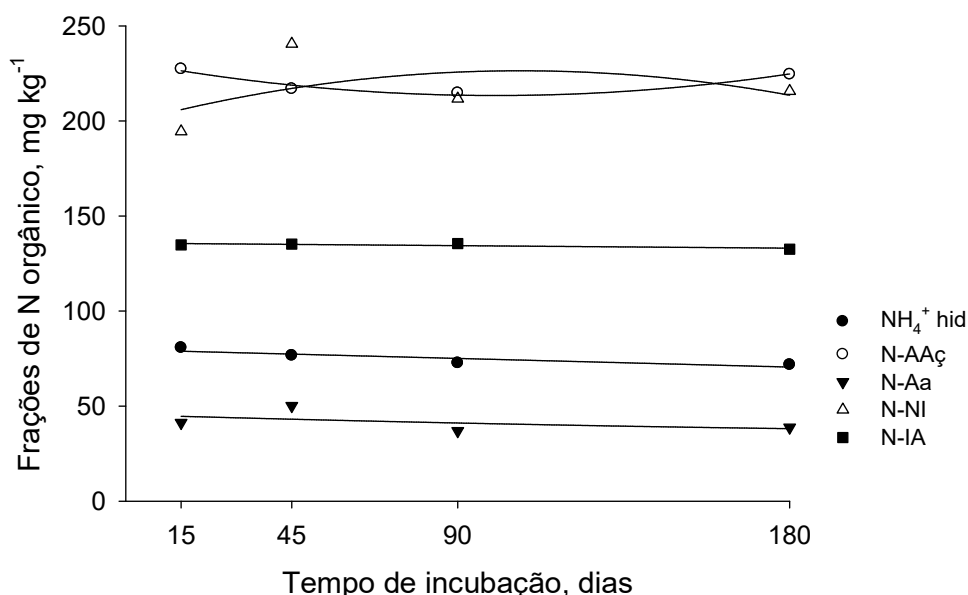


Figura 10. Frações de N orgânico em função do tratamento sem aplicação do esterco bovino e do tempo de incubação na média dos dois solos. N-NH₄⁺ hid: N-NH₄⁺ hidrolisável; N-AAç: N-aminoaçúcares; N-Aa: N-aminoácidos; N-NI: N-não identificado; N-IA: N-insolúvel em ácido.

O efeito da aplicação do esterco nas frações de N orgânico, no período de 15 aos 95 dias de incubação, resultou em predomínio do processo de mineralização em relação ao de imobilização do N, com conversão de frações de mais difícil degradação para frações de mais fácil degradação (Figura 11). Em experimento de incubação do solo com esterco bovino, Azeez e Averbek (2010), avaliaram os processos de mineralização e de imobilização do N por 120 dias, e obtiveram um padrão de liberação de N mineral no tempo que alterna períodos de imobilização e

mineralização de N, no qual houve imobilização do N até os 30 dias de incubação, seguido de mineralização com 40 dias, imobilização de 55 a 70 dias, mineralização com 90 dias e imobilização com 120 dias. Os autores atribuíram que a liberação dos nutrientes do esterco estimulou a multiplicação dos microrganismos resultando em imobilização inicial do N, e que em seguida, com a falta de nutrientes disponíveis, parte dos microrganismos morrem e os nutrientes imobilizados anteriormente são mineralizados de forma gradual, o que estimula novamente a reprodução microbiana e conseqüentemente inicia uma nova fase com predomínio da imobilização do N.

A partir de 15 dias de incubação, o N-aminoaçúcares foi decomposto a N-NH_4^+ hidrolisável e o N-não identificado a N-aminoácidos (Figura 11). Este comportamento permaneceu até próximo dos 95 dias, quando o teor de N-NH_4^+ hidrolisável e o N-aminoácidos começaram a diminuir, ao mesmo tempo em que o N-aminoaçúcares e o N-não identificado começaram a aumentar (Figura 11). Neste período, 95 a 180 dias, a imobilização deve ter prevalecido em relação à mineralização, pois o N-NH_4^+ hidrolisável diminuiu, em princípio, devido a sua utilização pelos microrganismos para a produção de N-aminoaçúcares nas células microbianas. Ainda neste período, o N-aminoácidos diminuiu, possivelmente porque o N-aminoácidos foi transformado para formas mais recalcitrantes não identificadas, uma vez que a fração N-não identificado aumentou após os 90 dias de incubação (Figura 11).

A disponibilização do N varia com as características químicas dos resíduos orgânicos quanto à relação C/N e lignina/N, que variam com os padrões de manejo, idade, alimentação e conversão alimentar do animal (AZEED; AVERBEKE; OKOROGON, 2009). A relação C/N do esterco utilizado neste trabalho, menor que 20, assim como a relação lignina/N, menor que 6,5, favorecem a mineralização do N (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; NOURBAKHSH; DICK, 2005).

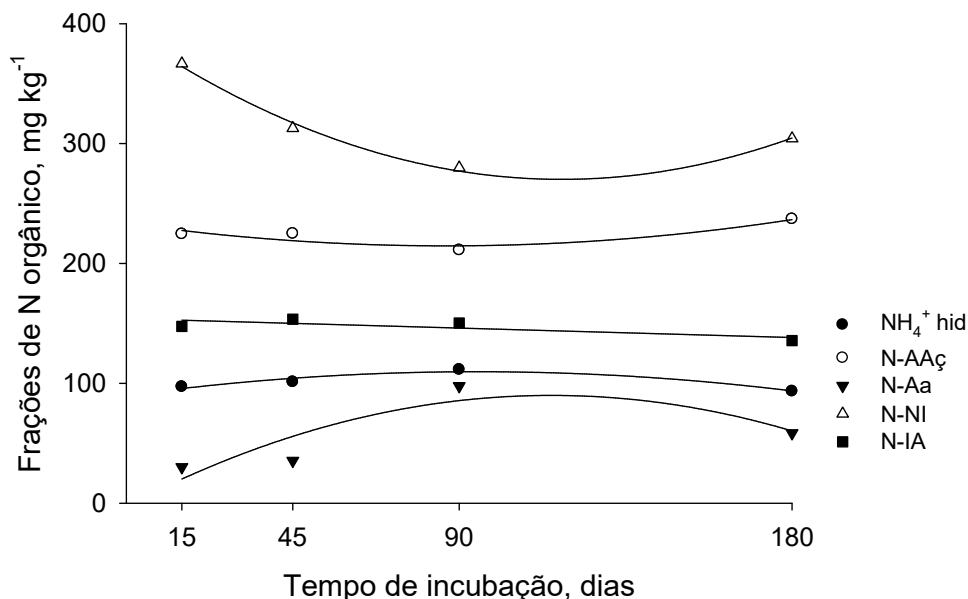


Figura 11. Frações de N orgânico em função da aplicação do esterco bovino e tempo de incubação na média dos dois solos. N-NH₄⁺ hid: N-NH₄⁺ hidrolisável; N-AAç: N-aminoaçúcares; N-Aa: N-aminoácidos; N-NI: N-não identificado; N-IA: N-insolúvel em ácido.

Avaliando de forma conjunta as frações de N orgânico no solo argiloso, na média das doses de esterco, é possível observar o predomínio do processo de mineralização em relação ao de imobilização no período de 15 até próximo dos 100 dias de incubação. Este efeito foi semelhante ao obtido com a aplicação do esterco, ou seja, decomposição de frações de mais difícil degradação (N-aminoaçúcares e N-não identificado) para frações de mais fácil degradação (N-NH₄⁺ hidrolisável e N-não identificado) (Figura 12). No entanto, neste caso, possivelmente o estímulo para o aumento da degradação do material orgânico tenha sido causado pela desagregação do solo na instalação do experimento. Após os 100 dias de incubação, a imobilização do N prevaleceu em relação à mineralização, com formação de N-aminoaçúcares pela imobilização do N disponibilizado no período anterior, e formação de N-não identificado pelo aumento da recalcitrância do N-aminoácidos.

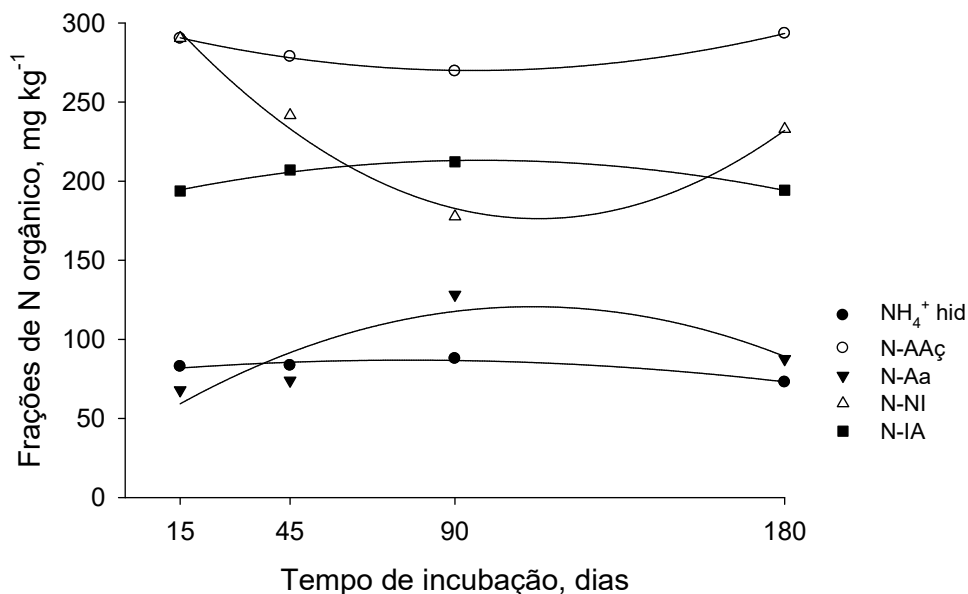


Figura 12. Frações de N orgânico em função do solo argiloso e do tempo de incubação na média das doses de esterco bovino. N-NH₄⁺ hid: N-NH₄⁺ hidrolisável; N-AAç: N-aminoaçúcares; N-Aa: N-aminoácidos; N-NI: N-não identificado; N-IA: N-insolúvel em ácido.

No solo arenoso, na média das doses de esterco, também houve predomínio da mineralização em relação à imobilização de N, com diminuição do N-aminoaçúcares e aumento do N-NH₄⁺ hidrolisável, e aumento da recalcitrância das formas de N, com formação de N-não identificado, no período de 15 até próximo dos 100 dias de incubação (Figura 13). Após o 100º dia, até o final da incubação, houve predomínio da imobilização de N com aumento do N-aminoaçúcares, diminuição do N-NH₄⁺ hidrolisável, e diminuição do grau de dificuldade de degradação com diminuição do N-não identificado (Figura 13).

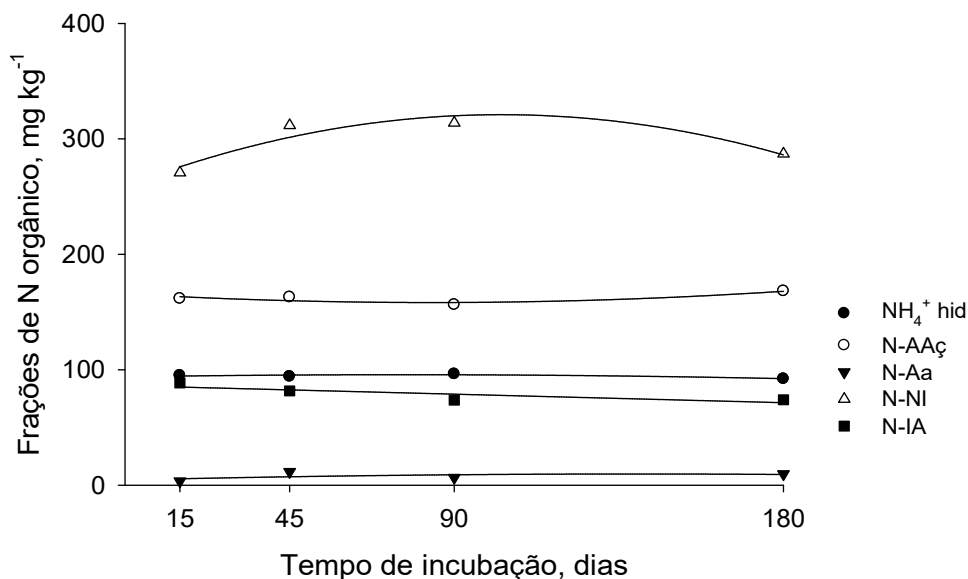


Figura 13. Frações de N orgânico em função do solo arenoso e tempo de incubação na média das doses de esterco bovino. N-NH₄⁺ hid: N-NH₄⁺ hidrolisável; N-AAç: N-aminoaçúcares; N-Aa: N-aminoácidos; N-NI: N-não identificado; N-IA: N-insolúvel em ácido.

4.5. Relações entre formas de N e atributos do solo

A taxa de recuperação do N nas várias frações analisadas em relação ao N-total determinado por digestão ácida variou de 70 a 92% considerando os dois solos. A recuperação foi menor no solo argiloso, de 70 a 88%, e maior no solo arenoso, de 78 a 92%. Este resultado pode ser explicado pela maior estabilidade da MO em solos mais argilosos, o que resulta em menor extração do N pelo método (ROS et al., 2011). A correlação entre o N-total determinado por digestão ácida e o N-total obtido pela soma do N-total hidrolisável e do N-insolúvel em ácido, foi alta (Figura 14), o que indica que houve recuperação proporcional do N do esterco nas frações avaliadas.

O N total apresentou correlação alta com pH ($r=0,87^{**}$), C orgânico ($r=0,87^{**}$), N-DVD ($r=0,77^{**}$), N mineral ($r=0,68^{**}$), N-NO₃⁻ ($r=0,68^{**}$), N-aminoaçúcares ($r=0,91^{**}$), N-aminoácidos ($r=0,78^{**}$), N-total hidrolisável ($r=0,71^{**}$), N-insolúvel em ácido ($r=0,92^{**}$) e N-NH₄⁺ hidrolisável + N-aminoaçúcares ($r=0,94^{**}$), e correlação baixa para N-NH₄⁺ ($r=-0,25^{*}$). Como grande parte do N está na forma orgânica, em torno de 98% do N total, as correlações do C orgânico com o N total, e das frações de N orgânico com o N total, também são esperadas. A correlação mais forte

ocorreu com a soma do N-NH_4^+ hidrolisável e do N-aminoaçúcares, que são as frações mais sensíveis às condições que podem aumentar ou diminuir a disponibilização do N. As correlações foram menores com as formas de N mineral do que com as frações orgânicas, pois elas respondem mais rapidamente às mudanças.

Não houve correlação entre N-total x N-NH_4^+ hidrolisável e N-total x N-NI. De modo geral, não há correlação entre o total e a(s) fração(ões) disponível(eis), porque a disponibilização é dependente de um conjunto de fatores, que não interfere no N-total. No caso da não correlação de N-total com N-NI, admite-se que durante a incubação, as formas de N-NI sofreram transformações e se distribuíram entre as várias frações de N, que compõem o N-total.

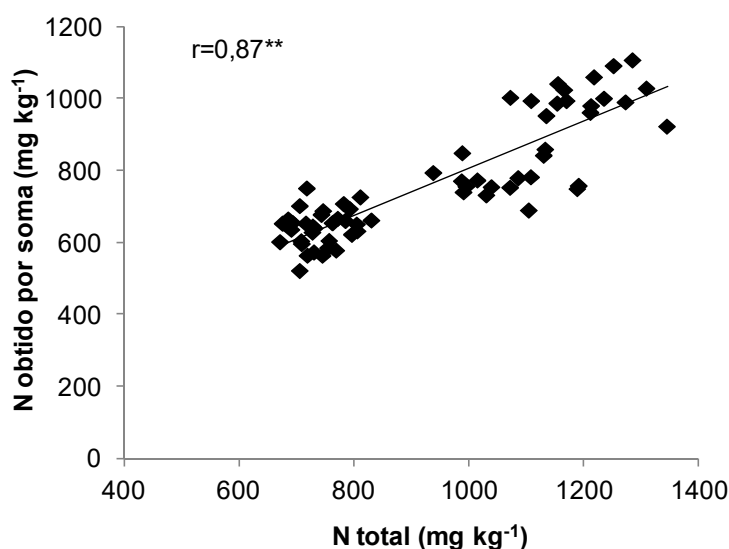


Figura 14. Correlação entre o N-total do solo determinado por digestão sulfúrica e o N-total obtido por soma.

O N-DVD apresentou correlações mais fracas com N-aminoácidos ($r=0,48^{**}$) e N-aminoaçúcares ($r=0,66^{**}$) e ausência de correlação com o N-NH_4^+ hidrolisável. Por outro lado, houve correlação mais forte com a soma do N-NH_4^+ hidrolisável e do N-aminoaçúcares ($r=0,74^{**}$). Como estas frações apresentaram comportamentos opostos, ou seja, quando uma aumentou a outra diminuiu, a soma destas frações elimina o efeito das interconversões entre estes compostos nitrogenados e melhora a correlação. Com o método da DVD são quantificadas as formas de NH_4^+ , de aminoaçúcares e pequena parte dos aminoácidos do solo e, deste modo, esperava-se obter forte correlação entre estas frações. Por outro lado, a correlação mais fraca

com N-aminoácidos era esperada devido ao método quantificar apenas pequena parte dos aminoácidos do solo.

As correlações do N-DVD foram mais fracas com o N-mineral ($r=0,47^{**}$) e o N-NO_3^- ($r=0,47^{**}$), e não houve correlação com N-NH_4^+ . O N-DVD representa o reservatório de N com potencial de disponibilização em curto e médio prazos, de modo que não se espera correlações altas com formas de N já mineralizadas.

O N-DVD também apresentou correlação com C orgânico ($r=0,80^{**}$) e com o N total ($r=0,77^{**}$), o que era esperado, uma vez que o objetivo é extrair compostos químicos facilmente degradáveis que representam uma subfração da MO total do solo (APPLE; MENGEL, 1998). Ros et al. (2011) também obtiveram correlação do N mineralizado medido em ensaio de incubação com C orgânico total e sugeriram que sistemas de recomendação de adubação que usam uma estimativa de N mineralizável devem, no mínimo, contar com uma variável de solo que reflita o tamanho do reservatório da MO.

5. CONCLUSÕES

A aplicação de esterco aumenta as frações de N orgânico de mais fácil mineralização até próximo de 100 dias após a aplicação, e posteriormente, aumenta as frações de N orgânico de maior estabilidade, principalmente no solo argiloso.

O N potencialmente disponível determinado por destilação a vapor direta correlacionou com as frações de N mais disponíveis, N-NH_4^+ hidrolisável, N-aminoaçúcares e N-aminoácidos.

6. REFERÊNCIAS

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

APPLE, T.; MENGEL, K. Prediction of mineralizable nitrogen in soils on the basis of an analysis of extractable organic N. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 161: p. 433-452, 1998.

AZEEZ, J. O.; VAN AVERBEKE, W.; OKOROGON, A. O. M. Differential responses in yield of pumpkin (*Cucurbita maxima* L.) and nightshade (*Solanum retroflexum* Dun.) to the application of three animal manures. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 2499-2505, 2009.

AZEEZ, J. O.; AVERBEKE, W. Van. Nitrogen mineralization potential of three animal manures applied on a sandy clay loam soil, **Bioresource Technology**, v.101, p. 5645-5651, 2010.

BERGAMASCO, M. A. M. **Formas de N-orgânico em Latossolo em função de Nitrogênio e de plantas de cobertura em pré-safra do milho**. 2015. 44f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Ciência do Solo) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio d Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2015.

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

BREMNER, J. M. Organic forms of nitrogen. In: BLACK, C. A.; EVANS, D. D.; WHITE, J. L.; ENSMINGER, L. E.; CLARCK, F. E. **Methods of soil analysis**. Part 2. Madison: Agronomy Monograph 9, 1965. p. 1238-1255.

BUSHONG, J. T.; ROBERTS, T. L.; ROSS, W. J.; NORMAN, R. J.; SLATON, N. A.; WILSON, C. E. Evaluation of distillation and diffusion techniques for estimating hydrolyzable amino sugar-nitrogen as a means of predicting N mineralization. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 72, p. 992-999, 2008.

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.

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

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVARES V., V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do solo**. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 375-470, 2007.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P. C. O. Determinação de nitrogênio total em solo. In: RAIJ, B. VAN; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. (Eds.) **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas, Instituto Agronômico, 2001. p. 262-269.

CHANG, C.; JANZEN, H. H. Long-term fate nitrogen from annual feedlot manure applications. **Journal of Environmental Quality**, v.25, p.785-790, 1996.

DURANI, A.; BRAR, B. S.; DHERI, G. S. Soil Nitrogen Fractions in Relation to Rice-Wheat Productivity: Effects of Long-Term Application of Mineral Fertilizers and Organic Manures. **Journal of Crop Improvement**, v. 30, p. 399-420, 2016.

GONZALEZ-PRIETO, S. J.; JOCTEUR-MONROZIER, L.; HÉTIER, J. M.; CARBALLAS, T. Changes in the soil organic N fractions of a tropical Alfisol fertilized with ^{15}N -urea and cropped to maize or pasture. **Plant and Soil**, v. 195, p. 151-160, 1997.

GUGGENBERGER, G.; FREY, S. D.; SIX, J.; PAUSTIAN, K.; ELLIOTT, E. T. Bacterial and fungal cell-wall residues in conventional and no-tillage agroecosystems. **Soil Science Society of American Journal**, v. 63, p. 1188-1198, 1999.

HAUCK, R. D.; TANJI, K. K. Nitrogen transfers and mass balance. In: STEVENSON, F. J.; BREMNER, J. M.; HAUCK, R. D.; KEENEY, D. R., Eds. **Nitrogen in agricultural soil**. Madison, American Society of Agronomy, 1982. p.891-925.

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

HUANG, Q. R.; HU, F.; HUANG, S.; LI, H. X.; YUAN, Y. H.; PAN, G. X.; ZHANG, W. J. Effect of long-term fertilization on organic carbon and nitrogen in a subtropical paddy soil. **Pedosphere**, v. 19, p. 727-734, 2009.

JONES, D. L.; KIELLAND, K. Soil amino acid turnover dominates the nitrogen flux in permafrost- dominated taiga forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34, p. 34-209–219, 2002.

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**, v. 65, p. 1751-1760, 2001.

KUHNEN, F. **Mineralização de Nitrogênio de solos e de resíduo orgânico em laboratório e em campo**. 2013. 64f. Tese (Doutorado em Agronomia – Ciência do Solo) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio d Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.

LATIFAH, O.; AHMED, O. H.; MAJID, N. M. A. Soil pH buffering capacity and nitrogen availability following compost application in a tropical acid soil. **Compost Science and Utilization**, p. 1-15, 2017.

LI, L.; LI, S. Nitrogen Mineralization from Animal Manures and Its Relation to Organic N Fractions. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 13, p. 2040-2048, 2014.

LÜ, H.; HE, H.; ZHAO, J.; ZHANG, W.; XIE, H.; HU, G.; LIU, X.; WU, Y.; ZHANG, X. Dynamics of fertilizer-derived organic nitrogen fractions in an arable soil during a growing season. **Plant and Soil**, v. 373, p.595-607, 2013.

MCGILL, W. B.; COLE, C. V. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. **Geoderma**, Amsterdam, v. 26, p. 267-286, 1981.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729p.

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

MULVANEY, R. L.; KHAN, S. A.; 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.

NARAMABUYE, F. X.; HAYNES, R. J. The liming effect of five organic manures when incubated with an acid soil. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 170, p. 615-622, 2007.

NOURBAKHS, F.; DICK, R. P. Net Nitrogen Mineralization or Immobilization Potential in a Residue-Amended Calcareous Soil, Arid Land. **Research and Management**, v.19, n.4, p.299-306, 2005.

OLK, C. O. Organic Forms of Soil Nitrogen. In: SCHEPERS, J. S.; RAUN, W. R. **Nitrogen in Agricultural Systems**. Madison, USA, American Society of Agronomy, 2008, p. 57-100.

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

PARSONS, J. W. Chemistry and distribution of amino sugars in soil and soil organisms. In Paul, E. A.; Ladd, J. N. (Eds.) **Soil biochemistry**, Marcel Dekker, New York, v. 5, 1981, p. 197-227.

PIERZYNSKI, G. M.; SIMS, J. T.; VANCE, G. F. **Soils and environmental quality**. 3. ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005. 569 p.

QIU, S-J.; PENG, P-Q.; LI, L.; HE, P.; LIU, Q.; WU, J-S.; CHRISTIE, P.; JU, X-T. Effects of applied urea and straw on various nitrogen fractions in two Chinese paddy soils with differing clay mineralogy. **Biology and Fertility of Soils**, v. 48, p. 161-172, 2012.

QUIQUAMPOIX, H.; STAUNTON, S.; BARONB, M.-H.; RATCLIFFE, R. G. Interpretation of the pH dependence of protein adsorption on clay mineral surfaces and its relevance to the understanding of extracellular enzyme activity in soil. Colloids and Surfaces. **Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 75, p. 85-93, 1993.

RAIJ, B. van.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas, Instituto Agrônomo e Fundação IAC, 1996. 285p. (Boletim técnico, 100).

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

RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**. Piracicaba, International Plant Nutrition Institute, 2011. 420p.

ROBERTS, T. L.; NORMAN, R. J.; SLATON, N. A.; WILSON JUNIOR, C. E.; ROSS, W. J.; BISHONG, J. T. Direct steam distillation as an alternative to the Illinois Soil Nitrogen Test. **Soil Science Society of American Journal**, v. 73, n. 4, p. 1268-1275, 2009.

ROS, G. H., HANEGRAAF, M. C., HOFFLAND, E., VAN RIEMSDIJK, W. H. Predicting soil N mineralization: Relevance of organic matter fractions and soil properties. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 43, p. 1714-1722, 2011.

SAHRAWAT, K. L. Nitrification in some tropical soils. **Plant and Soil**, v. 65, p. 281-286, 1982.

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

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

SHARON, N. Glycoproteins of higher plants. p. 235-252. In PRIDHAM, J. B. (Ed.) **Plant carbohydrate biochemistry**. Academic Press, London, UK, 1974.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.

STEVENSON, F. J. Nitrogen-organic forms. In: Page, A. L. (Ed.). **Methods of soil analysis: Chemical and Microbiological Properties**. Part 2. Madison, USA, Soil Science Society of America, 1982. p. 625-641.

STEVENSON, F. J. **Cycles of soil: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients**. New York, USA, John Wiley and Sons, 1986, 380 p.

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

TIAN, J.; WEI, K.; CONDRON, L. M.; CHEN, Z.; XU, Z.; FENG, J.; CHEN, L. Effects of elevated nitrogen and precipitation on soil organic nitrogen fractions and nitrogen-mineralizing enzymes in semi-arid steppe and abandoned cropland. **Plant and Soil**, p. 1-13, 2017.

WANDER, M.; YUN, M. W.; GOLDSTEIN, W. A.; AREF, S.; KHAN, S. A. Organic N and particulate organic matter fractions in organic and conventional farming systems with a history of manure application. **Plant and Soil**, v. 291, p. 311-321, 2007.

WERDIN-PFISTERER, N. R.; KIELLAND, K.; BOONE, R. D. Soil amino acid composition across a boreal forest successional sequence. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 41, p. 1210-1220, 2009.

WHALEN, J.K.; CHANG, C.; CLAYTON, G.W.; CAREFOOT, J.P. Cattle manure amendments can increase the pH of acid soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 64, p. 962-966, 2000.

YAGI, R.; FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P.; BARBOSA, J. C. Organic matter fractions and soil fertility under the influence of liming, vermicompost and cattle manure. **Scientia Agricola**, v. 60, p. 549-557, 2003.

YAN, F.; SCHUBERT, S.; MENGEL, K. Soil pH increased due to biological decarboxylation of organic anions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 28, p. 617-624, 1996.

ZECH, W.; SENESI, N.; GUGGENBERGER, G.; KAISER, K.; LEHMANN, J.; MIANO, T. M.; MILTNER, A.; SCHROTH, G. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. **Geoderma**, v.79, p.117-161, 1997.