UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

FORMAS DE NITROGÊNIO EM LATOSSOLOS ADUBADOS COM LODO DE ESGOTO POR VINTE ANOS

Roberta Souto Carlos
Tecnóloga em Biocombustíveis

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

FORMAS DE NITROGÊNIO EM LATOSSOLOS ADUBADOS COM LODO DE ESGOTO POR VINTE ANOS

Roberta Souto Carlos
Orientadora: Profa. Dra. Mara Cristina Pessôa da Cruz

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Agronomia (Ciência do solo).

2021

C284f

Carlos, Roberta Souto

Formas de nitrogênio em latossolos adubados com lodo de esgoto por vinte anos / Roberta Souto Carlos. -- Jaboticabal, 2021

60 f. : il., tabs.

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

Orientadora: Mara Cristina Pessôa da Cruz

1. Adubação orgânica. 2. Biossólido. 3. Fracionamento de nitrogênio. 4. Resíduos orgânicos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: FORMAS DE NITROGÊNIO EM LATOSSOLOS ADUBADOS COM LODO DE ESGOTO POR VINTE ANOS

AUTORA: ROBERTA SOUTO CARLOS
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 (Participaçao Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Pesquisador Dr. RENATO YAGI (Participaçao Virtual)
Estação de Pesquisa de Ponta Grossa / Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná

Prof. Dr. MANOEL EVARISTO FERREIRA (Participaçao Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. JOSÉ RICARDO MANTOVANI (Participaçao Virtual)
Fundação de Ensino e Tecnologia de Alfenas-FETA / Faculdade de Agronomia da Universidade José do Rosário Vellano-Unifenas - Alfenas/MG

Prof. Dr. LUCAS BOSCOV BRAOS (Participaçao Virtual)
IFSULDEMINAS / Machado/MG

Jaboticabal, 07 de julho de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ROBERTA SOUTO CARLOS nasceu em Ribeirão Preto/SP, no dia 26 de setembro de 1993. Em 2014 graduou-se em Tecnologia em Biocombustíveis pela Faculdade de Tecnologia de São Paulo (FATEC) campus de Jaboticabal. Durante a graduação, realizou iniciação científica por dois anos trabalhando com recuperação de áreas degradadas por mineração na Floresta Amazônica e utilização de membranas cerâmicas para desinfecção de esgoto, que lhe rendeu certificado de menção honrosa e prêmio de 1º lugar na categoria de Ciências Biológicas e Agrárias na amostra de projetos da 7ª Feira Tecnológica do Centro Paula Souza. Entrou no mestrado em Agronomia (Ciência do solo) em fevereiro 2015, sendo bolsista Capes por 18 meses sob orientação do professor Dr. Wanderley José de Melo. A conclusão do mestrado foi em julho de 2017 com a defesa da dissertação “Crambe cultivado em sucessão ao milho fertilizado com lodo de esgoto por dezoito anos consecutivos”. Em agosto de 2017 ingressou no mesmo programa de pós-graduação, em nível de doutorado, sob orientação da Profa. Dra. Mara Cristina Pessôa da Cruz. Durante o doutorado foi bolsista Capes por 11 meses e bolsista Univesp, no programa de Especialização em Processos Didático-Pedagógicos para Cursos na Modalidade a Distância, por 24 meses.

"É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota."

Theodore Roosevelt (1924)

Dedico

À Maria Célia, Sérgio, Luiz Otávio, Victor, José Gabriel e Daniel.

Ofereço

Aos meus avós maternos, Yolanda Antunes (*in memoriam*) e Antônio Eustáquio Souto, por todo amor e suporte ao longo da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo amparo nos dias de angústia e felicidade.

À minha família, por me ensinar desde cedo que a educação é o caminho que transforma vidas, por ter paciência comigo em dias difíceis e por ser meu maior suporte de amor. Ter vocês como família é uma dádiva.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, pela oportunidade e infraestrutura necessária a realização desse trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À Universidade Virtual do Estado de São Paulo pela oportunidade da realização da Especialização em Processos Didático-Pedagógicos para Cursos na Modalidade a Distância e pela concessão da bolsa no período de 01-08-2019 a 31-07-2021.

À minha orientadora Prof.ª Dr.ª Mara Cristina Pessôa da Cruz por todo seu cuidado, amor e respeito pela profissão de professora. Sempre digo que a jornada da pós-graduação nunca é fácil, mas caminhar com você do lado tornou-a mais prazerosa. Minha eterna gratidão pela confiança, ensinamento e principalmente por sua amizade ao longo desses anos.

Ao Prof. Dr. Manoel Evaristo Ferreira por compartilhar comigo momentos de ensinamentos, diversão e apoio. O Senhor é uma referência em fertilidade do solo e foi um prazer dividir o laboratório contigo neste espaço de tempo.

Ao Prof. Dr. Wanderley José de Melo pela concessão das amostras de solo utilizadas neste trabalho e por ter feito eu me apaixonar pela pesquisa, ainda na minha graduação, quando abriu as portas do seu laboratório a mim.

Aos membros da Comissão Examinadora do Exame Geral de Qualificação, Prof. Dr. Renato Yagi e Prof. Dr. Manoel Evaristo Ferreira, pelos apontamentos que permitiram explorar novas possibilidades.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Renato Yagi, Prof. Dr. Manoel Evaristo Ferreira, Prof. Dr. Lucas Boscov Braos e Prof. Dr. José Ricardo Mantovani, pelas valiosas contribuições que refletiram na melhoria desta tese.

Aos amigos da pós-graduação: Denise de Lima Dias Delarica, Letícia Fernanda Lavezzo, Thaís Chagas Barros de Moraes, Danilo Olandino de Souza, Gilberto Pelegrini, Lucas Augusto Girio, Amanda Manduca Rosa da Silva, Ivã Guidini Lopes, Adriano Mandarino, Antonio Marcio Souza Rocha, Maira Caroline Terçariol, Samira Furtado de Queiroz, Gelza Carliane Marques e Elienai Ferreira da Silva por toda troca de conhecimento, companheirismo, amizade e alegria. Sou muito grata por tê-los em meu coração.

Muito obrigada.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS ix
LISTA DE FIGURAS x
1 INTRODUÇÃO 1
2 REVISÃO DE LITERATURA 2
3 MATERIAL E MÉTODOS 9
3.1 Histórico das áreas experimentais 9
3.2 Coleta e caracterização do solo das áreas experimentais após 20 anos de aplicação de LE 11
3.3 Caracterização do LE utilizado no 20º ano de experimento 12
3.4 Preparo das amostras de solo e determinação do N absorvido pelo capim-marandu 13
3.4.1. Preparo das amostras 13
3.4.2 Determinação do N absorvido 13
3.5 Determinação de N total e do N orgânico mineralizável pelo método da destilação a vapor direta (N-DVD) 14
3.6 Determinação da taxa de mineralização do nitrogênio 14
3.7 Fracionamento do N orgânico do solo 15
3.7.1 Formas do nitrogênio orgânico avaliadas 16
3.7.2 Obtenção do hidrolisado ácido 16
3.7.2.1 Determinação das frações de N no hidrolisado ácido 16
3.7.2.2 Determinação do N insolúvel em ácido (N-IA) 18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 19
4.1 N-abs na parte aérea das plantas 20
4.2 N-DVD e N total do solo 21
4.3 Mineralização de N 24
4.4 Frações do N orgânico 31
4.5 Correlações 37
5 CONCLUSÕES 38
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 39

FORMAS DE NITROGÊNIO EM LATOSSOLOS ADUBADOS COM LODO DE ESGOTO POR VINTE ANOS

RESUMO - O conhecimento do comportamento do nitrogênio (N) proveniente de lodo de esgoto (LE) é de suma importância para garantir a sustentabilidade dos sistemas produtivos nos quais ele é usado como fertilizante. Os objetivos com este estudo foram avaliar o efeito da aplicação por vinte anos de LE nas formas de N e estabelecer relações entre as formas avaliadas e o N disponível para as plantas. As amostras de solo utilizadas neste trabalho foram provenientes de experimentos de campo instalados em Latossolo Vermelho eutroférrico (LVef) e em Latossolo Vermelho distrófico (LVd), ambos em blocos casualizados com três doses de LE mais um tratamento controle. As doses de lodo foram aplicadas anualmente e em vinte anos totalizaram 0, 100, 200 e 365 Mg ha^{-1}. Nas amostras de solo coletadas das áreas experimentais foram determinadas as seguintes frações do N orgânico: N-NH_4^+ hidrolisável, N-aminoaçúcares (N-Aaç), N-aminoácidos (N-Aa), N-total hidrolisável e N-insolúvel em ácido (NI). Por cálculo foi obtido o N-não identificado. A taxa de mineralização de N usando o método de incubação aeróbia por 210 dias, o N-total e o N orgânico mineralizável por destilação a vapor direta (N-DVD) também foram quantificados. Com as amostras de solo provenientes do campo também foi instalado, em casa de vegetação, um experimento para quantificar o N disponibilizado para plantas de capim-braquiária cv. Marandu. Nas plantas foram determinados o N extraído em três épocas de coleta, aos 40, 70 e 100 dias. Os maiores acúmulos de N na matéria seca das plantas foram observados com aplicação de 365 Mg ha^{-1} de LE no LVef e com 200 e 365 Mg ha^{-1} no LVd, acompanhando a variação nos teores de matéria orgânica dos solos após 20 anos de aplicação do resíduo. A aplicação de LE por 20 anos aumentou o reservatório total de N do solo e o N absorvido (Nabs) por plantas de capim-marandu. O N incorporado ao solo pelas aplicações repetidas de LE se distribui proporcionalmente entre os reservatórios, e as frações de N-Aaç e N-IA predominam em relação às demais em latossolos adubados com LE por 20 anos. O fracionamento químico do N orgânico dos solos, além de não ser um método prático, também não é eficiente para descrever a origem do N disponível. O N-DVD apresenta praticidade, extrai quantidades de N semelhantes ao N absorvido pelas plantas e, apesar de não correlacionar com a fração N-NH_4^+, é o que melhor correlaciona com o N-absorvido pelas plantas e, por isso, pode ser considerado o melhor método de avaliação da disponibilidade de N.

Palavras-chave: Adubação orgânica, biossólido, fracionamento de nitrogênio, resíduos orgânicos

FORMS OF NITROGEN IN OXISOILS FERTILIZED WITH SEWAGE SLUDGE FOR TWENTY YEARS

ABSTRACT - The knowledge of the behavior of nitrogen (N) from sewage sludge (SS) is of paramount importance to ensure the sustainability of production systems in which it is used as a fertilizer. The objectives of this study were to evaluate the effect of applying SS for twenty years on N forms and to establish relationships between the evaluated forms and the N available to the plants. The soil samples used in this work were from field experiments installed in Oxisols (LVef) and (LVd), both in randomized blocks with three doses of SS plus a control treatment. Sludge doses were applied annually and in twenty years totaled 0, 100, 200 and 365 Mg ha^{-1}. With the soil collected from the experimental areas, the following organic fractions were determined: N-NH_4^+ hydrolyzable, N-aminosugars, N-amino acids, N-total hydrolyzable and N-insoluble in acid. By calculation, the unidentified-N was obtained. The N mineralization rate using the aerobic incubation method for 210 days, the total-N and the mineralizable organic N by direct steam distillation (N-DSD) were also quantified. In the soil samples from the field, an experiment was also installed, in a greenhouse, to quantify the N available for Brachiaria grass plants cv. Marandu. In the plants, the extracted N was determined at three times of collection, at 40, 70 and 100 days. The highest accumulations of N in plant dry matter were observed with the application of 365 Mg ha^{-1} of SS in the LVef and with 200 and 365 Mg ha-1 in the LVd, following the variation in the organic matter content of the soils after 20 years of waste application. The application of SS for 20 years increased the total soil N pool and the N uptake by marandu grass plants. The N incorporated into the soil by repeated SS applications is proportionally distributed among the reservoirs, and the N-amonisugars and N-insoluble in acid fractions predominate in relation to the others in oxisols fertilized with SS for 20 years. The chemical fractionation of organic N in soils, in addition to not being a practical method, is also not efficient to describe the source of available N. N-DSD is practical, extracts amounts of N similar to the N absorbed by plants and does not correlate with the N-NH_4^+ fraction, but it is the one that best correlates with the N-absorbed by plants and, therefore, it can be considered the best method of evaluating the availability of N.

Keywords: Organic fertilization, biosolids, nitrogen fractionation, organic waste.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ano agrícola do experimento, cultura utilizada e cidade onde foi gerado o lodo de esgoto 11

Tabela 2. Caracterização química, física e mineralógica dos Latossolos após um ano da 20° aplicação de lodo de esgoto 12

Tabela 3. Nitrogênio absorvido (Nabs) por plantas de *Urochloa brizantha* cv. Marandu em Latossolo Vermelho distrófico (LVd) e em Latossolo Vermelho eutroférrico (LVef) com aplicação de lodo de esgoto (LE) por 20 anos 21

Tabela 4. Teores de N-DVD e N total de Latossolo Vermelho distrófico (LVd) e de Latossolo Vermelho eutroférrico (LVef) com aplicação de lodo de esgoto (LE) por 20 anos..... 22

Tabela 5. N mineralizado líquido e teores de N-amônio e N-nitrato até os 210 dias de incubação de um Latossolo Vermelho distrófico (LVd) e um Latossolo Vermelho eutroférrico (LVef) com aplicação de LE por 20 anos 30

Tabela 6. Frações do N orgânico em um Latossolo Vermelho distrófico (LVd) e um Latossolo Vermelho eutroférrico (LVef) com aplicação de LE por 20 anos..... 33

Tabela 7. Coeficientes de correlação (r) entre N absorvido (Nabs) pelas plantas e os teores de N no solo 37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Processo de mineralização e nitrificação de N do solo 3

Figura 2. Processos de entradas e saídas de N no solo 4

Figura 3. Gradiente de dificuldade de degradação das frações de N orgânico 7

Figura 4. N-total e N-DVD nas amostras de solo e N absorvido pelo capim-marandu, em mg kg^{-1}, no LVd adubado com doses de lodo de esgoto por 20 anos 23

Figura 5. N-total e N-DVD nas amostras de solo e N absorvido pelo capim-marandu, em mg kg^{-1}, no LVef adubado com doses de lodo de esgoto por 20 anos 23

Figura 6. Mineralização de N (mg kg^{-1}) observada e estimada de acordo com a regressão exponencial ao longo de 210 dias de incubação de quatro doses de lodo de esgoto em LVd 25

Figura 7. Mineralização de N (mg kg^{-1}) observada e estimada de acordo com a regressão exponencial ao longo de 210 dias de incubação de quatro doses de lodo de esgoto em LVef 26

Figura 8. Tempo de meia-vida para a mineralização do N em amostras submetidas a 210 dias de incubação em laboratório provenientes de experimentos de campo com 20 aplicações anuais de lodo de esgoto em Latossolo Vermelho Distrófico (LVd) e em Latossolo Vermelho Eutroférrico (LVef) 29

Figura 9. Porcentagem de N total hidrolisável e de N insolúvel em ácido no teor de N total do solo, em função das doses de aplicação de LE em um Latossolo Vermelho distrófico (LVd) e um Latossolo Vermelho Eutroférrico (LVef) 35

Figura 10. Porcentagem das frações de N em relação ao N total hidrolisável, em função das doses de aplicação de LE em um Latossolo Vermelho distrófico (LVd) e um Latossolo Vermelho Eutroférrico (LVef)..... 36

1 INTRODUÇÃO

As constantes transformações e os vários processos de entrada e saída do nitrogênio (N) nos solos fazem do seu manejo um grande desafio para a produção mundial de alimentos.

Apesar de ser o nutriente mais absorvido pela maioria das culturas, as formas de nitrogênio assimiláveis pelas plantas (NH_4^+ e NO_3^-) representam apenas uma pequena fração do N total do solo e, devido a sua dinâmica, essas formas sofrem alterações na concentração rapidamente, o que dificulta a estimativa da disponibilidade. Não ter um índice de disponibilidade de N, por sua vez, torna as recomendações de adubação mais difíceis e imprecisas. Atualmente, a recomendação de doses de N no Estado de São Paulo é feita com base na expectativa de produtividade e no histórico da área.

As dificuldades no manejo desse nutriente são ainda maiores em locais que recebem aplicações de resíduos orgânicos, prática que vem ganhando importância devido à necessidade de destinação sustentável dos resíduos e ao potencial de melhora na qualidade física e química dos solos decorrente da sua aplicação. A complexidade do manejo nestas áreas aumenta porque as transformações do N dos resíduos orgânicos são mediadas por uma série de fatores físicos, químicos e biológicos do solo, e por características do resíduo, como sua relação C/N.

Um dos resíduos com alto potencial de uso agrícola, rico em nitrogênio (~47 g kg^{-1}), é o lodo de esgoto (LE). A qualidade do lodo é condicionada pela natureza do resíduo que chega à estação e pelo sistema de tratamento de esgoto empregado, que condicionam sua transformação no solo e as características físico-químicas da matéria orgânica gerada a partir dele. O LE apresenta, de modo geral, relação C/N baixa, mas apesar disso, é um material de degradabilidade lenta no solo. Assim, aplicações sucessivas de LE em uma mesma área podem resultar em aumento nos teores de matéria orgânica do solo (MOS) e ganho nas reservas de N.

Em áreas de emprego anual de LE, à medida que as aplicações vão se sobrepondo, o processo de decomposição vai ganhando complexidade devido à mistura dos materiais frescos, recém-adicionados, com os materiais estabilizados de

anos anteriores. Nestas áreas é preciso conhecer a(s) fração(ões) que mais contribui(em) com o N absorvido pelas plantas e como é o comportamento de mineralização do N do solo para ajustar o manejo do próprio LE.

Assim, são hipóteses do presente trabalho: (i) a aplicação prolongada de lodo de esgoto aumenta os estoques da matéria orgânica do solo e o teor de N total do solo, o que resulta em mudanças nas formas de N, com potencial de fornecimento de N para as plantas; (ii) com aplicações de lodo de esgoto em longo prazo com sobreposição de doses no tempo, as taxas de mineralização de N aumentam.

O objetivo geral estabelecido deste trabalho foi: avaliar o efeito da aplicação de lodo de esgoto por vinte anos nas formas de N orgânico e estabelecer relações entre as formas avaliadas e o N disponível para as plantas. Os objetivos específicos foram: (i) avaliar as frações do N orgânico em dois latossolos adubados com lodo de esgoto por vinte anos consecutivos; (ii) determinar o N potencialmente mineralizável usando o método de incubação aeróbia de longa duração e o método de destilação a vapor direta (N-DVD); (iii) identificar as frações do N do solo que mais contribuem com a nutrição das plantas; (iv) correlacionar os teores de N das frações e o N potencialmente mineralizável com o N absorvido pelas plantas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O nitrogênio é o nutriente mais exigido pela maioria das culturas e, por isso e por outros fatores, como teores baixos no solo, alto potencial para perdas e manejo complexo da adubação, frequentemente limita as produções agrícolas. Ele é o único nutriente de planta que não pode ser liberado pelo intemperismo, porque não é constituinte de minerais (Brady e Weil, 2013; Gruber e Galloway, 2008; Hui et al., 2018), e que tem o comportamento controlado, a maior parte do tempo, pela atividade dos microrganismos.

O N em formas minerais acessíveis às plantas ($N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$) representa uma porção muito pequena do N total, apesar de amplamente distribuído na litosfera, atmosfera, hidrosfera e biosfera. No solo, o N encontra-se em sua maior parte na forma orgânica (~95%), como constituinte da matéria orgânica do solo

(MOS) e, admite-se, apenas cerca de 5% do total encontram-se em formas inorgânicas (Majumder et al., 2018; Schulten e Schnitzer, 1997).

A distribuição do N total do solo é, de modo geral, a seguinte: aproximadamente 40% de material proteico (proteínas, peptídeos e aminoácidos); 5 a 6% de aminoaçúcares; 35% na forma de compostos nitrogenados heterocíclicos (incluindo purinas e pirimidinas); e 19 a 20% na forma de NH_3, sendo aproximadamente um quarto fixado como NH_4^+. Devido à alta concentração de N na forma orgânica, a MOS é considerada o principal reservatório desse nutriente e atua como fornecedora de N para o crescimento de plantas e microrganismos (Schulten e Schnitzer, 1997).

As substâncias orgânicas nitrogenadas do solo não são prontamente disponíveis às plantas, mas são consideradas reservatório de N, pois podem se tornar acessíveis após a mineralização, processo no qual os microrganismos do solo transformam o N de formas orgânicas complexas em formas minerais assimiláveis (Figura 1).

Aminização

$$N\ org\hat{a}nico \rightarrow R - NH_2 + CO_2 + outros\ produtos + Energia$$

Amonificação

$$R - NH_2 + H_2O \rightarrow NH_3 + R - OH + Energia$$

$$NH_3 + H_2O \leftrightarrow NH_4^+ + OH^-$$

Nitrificação

$$2\,NH_4^+ + 3\,O_2 \rightarrow 2\,NO_2^- + 2\,H_2O + 4\,H^+ + Energia$$

$$2\,NO_2^- + O_2 \rightarrow 2\,NO_3^- + Energia$$

Figura 1. Processos de mineralização e nitrificação de N do solo.

Na mineralização (Figura 1), o N orgânico de grandes moléculas insolúveis é decomposto, formando outras contendo N em unidades cada vez menores (aminização), até ser transformado em NH_4^+ (amonificação) e, posteriormente, na

nitrificação, oxidado a NO_3^- por bactérias nitrificantes autotróficas dos gêneros *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* (Brady e Weil, 2013; Schulten e Schnitzer, 1997).

Estima-se que, anualmente, entre 1,5 e 3,5% do N orgânico presente nos solos são mineralizados. Esse processo depende de diversos fatores edáficos (teor de MOS e textura, particularmente) e climáticos (principalmente umidade e temperatura). Admite-se como adequadas, umidade correspondente a 60% do espaço poroso preenchido com água, e temperatura variando entre 25 e 35º C (Brady e Weil, 2013). Além das condições edafo-climáticas, estratégias de manejo das áreas cultivadas, como a adição de resíduos orgânicos, interferem na mineralização. A relação C/N dos resíduos é um dos principais reguladores do processo, de modo que, após adição de materiais com relação C/N baixa (<20), admite-se predomínio de mineralização. Por outro lado, quando ocorre a aplicação de resíduos com relação C/N alta (>35) há favorecimento do processo inverso, denominado imobilização, no qual o N mineral é transformado em N orgânico (Stevenson, 1982).

Devido às diversas transformações que podem ocorrer, e dos processos de entrada e saída dos solos (Figura 2), o manejo da adubação nitrogenada é um dos maiores desafios da agricultura.

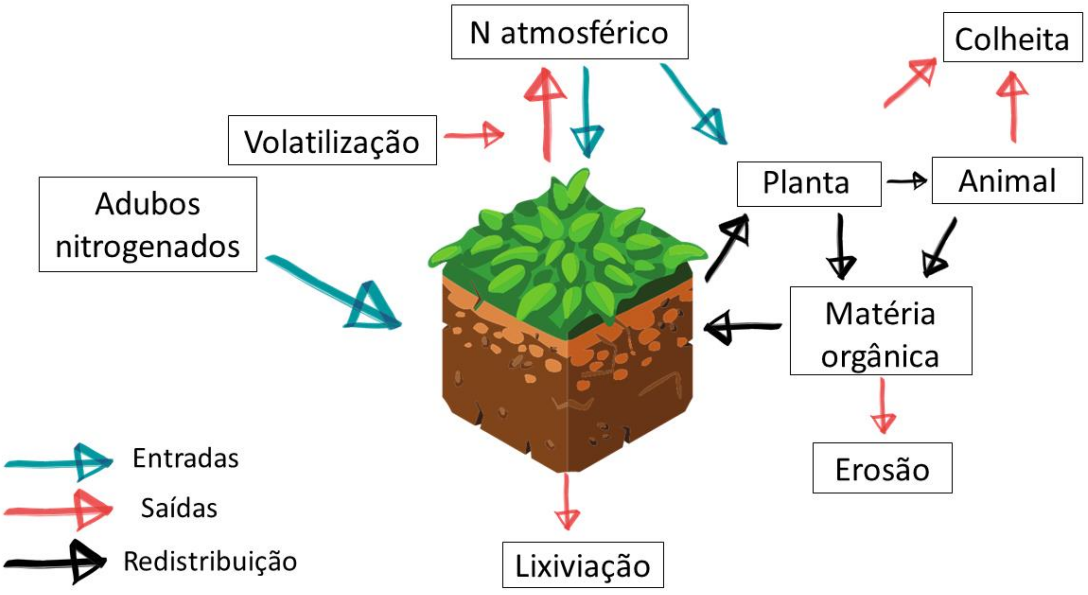

Figura 2. Processos de entrada e saída de N no solo.

A complexa gama de processos e interações que ocorrem no ciclo do N (Figura 2) pode ser dividida em: i) entradas e saídas do sistema, nos processos que incorporam ou retiram o N do solo, respectivamente; ii) ciclagem do N em processos que o transformam em várias formas e o transportam de um reservatório para outro, sem entradas ou saídas, apenas com redistribuição, e sem alterar o reservatório total de N no solo (Zhang et al., 2020).

Diferentemente do que se observa para os demais nutrientes, os processos de entrada e saída do N do solo são mediados por processos biológicos. Enquanto, por exemplo, o fósforo (P) é incorporado ao solo pelo intemperismo, o N é, em sua maior parte, derivado da fixação biológica de N_2. O mesmo se aplica aos processos de saída: enquanto, de maneira geral, o P é removido por erosão, o N é perdido por desnitrificação e processos microbianos associados (Zhang et al., 2020), e por lixiviação.

Na ciclagem do N, todas as vias de transformação do elemento no solo são simultâneas e ocorrem sob a atuação de diversos fatores ambientais e de diferentes microrganismos presentes no solo (Bartholomew e Clark, 1965; Tusneem e Patrick Jr., 1971). Assim, por conter formas muito dinâmicas que sofrem alterações na concentração muito rapidamente, a quantidade de N inorgânico determinada em dado momento não representa a capacidade do solo para fornecer N ao longo de um período.

As constantes modificações que o N sofre no solo, além de tornar o manejo da adubação nitrogenada uma prática complexa, dificultam obter altos índices de eficiência, sendo relatadas de modo geral, dependendo da cultura, eficiências menores do que 50%. Esse baixo rendimento ocasiona uma série de problemas ambientais que vão desde a eutrofização de sistemas aquáticos, até a acidificação dos solos em escala global (Gruber e Galloway, 2008; Majumder et al., 2018).

A nitrificação (Figura 1), por exemplo, é um processo rápido, que ao gerar NO_3^- no solo, pode resultar em diversos prejuízos ambientais, devido à alta mobilidade e facilidade de ser perdido por lixiviação (Schulten e Schnitzer, 1997), e por causa da geração de H^+ e lixiviação de bases juntamente com o NO_3^-, processos que aceleram a acidificação do solo.

Assim sendo, os processos biogeoquímicos que envolvem o ciclo do N comandam a quantidade de N disponível, e os microrganismos têm papel crítico na distribuição das formas de N no solo. O problema é que características detalhadas das formas de N e seus padrões de liberação não são conhecidos com clareza (Majumder et al., 2018; Zhang et al., 2020) e, ainda, nos sistemas agrícolas, as formas estão em constante alteração. Por isso, estudos que envolvem as frações do N orgânico nos solos, e suas possíveis transformações, podem apoiar na previsão da disponibilidade de N para as plantas ao longo do tempo, evitando desperdícios de adubos e minimizando os impactos ambientais pelo excesso.

O fracionamento químico do N orgânico é uma ferramenta que fornece informações que facilitam a compreensão do comportamento do N no solo, sendo possível avaliar a contribuição das formas orgânicas na disponibilidade de N para as plantas e detectar alterações na distribuição do N entre os reservatórios causadas por mudanças no manejo. A partir deste conhecimento é possível concluir sobre os efeitos do manejo na disponibilidade do nutriente para as culturas e selecionar práticas mais favoráveis.

O conhecimento das formas orgânicas do N é baseado em estudos envolvendo a identificação e a estimativa dos compostos nitrogenados liberados por hidrólise ácida. Entretanto, como as características detalhadas das formas de N e os seus padrões de liberação não são conhecidos com clareza, não há consenso sobre as frações que melhor se correlacionam com o N absorvido pelas plantas (Bremmer, 1965; Kuhnen, 2013; Majumder et al., 2018).

No formato em que foi proposto inicialmente, problemas analíticos no fracionamento dificultavam a pesquisa sobre a natureza e a abundância de compostos de nitrogênio orgânico nos solos (Tusneem e Patrick Jr., 1971). No começo deste século, entretanto, foram propostas alterações que aumentaram a precisão e a confiança no fracionamento do N orgânico do solo (Khan et al., 2001).

No método proposto por Bremner (1965), a quantificação do N é feita por destilação a vapor e as frações obtidas são: N-NH_4^+ hidrolisável, N-Aminoaçúcares, N-Aminoácidos, N-Total hidrolisável, N-Não identificado e N-Insolúvel em ácido, podendo ser classificadas de acordo com a resistência ao ataque microbiano nesta sequência, conforme Figura 3.

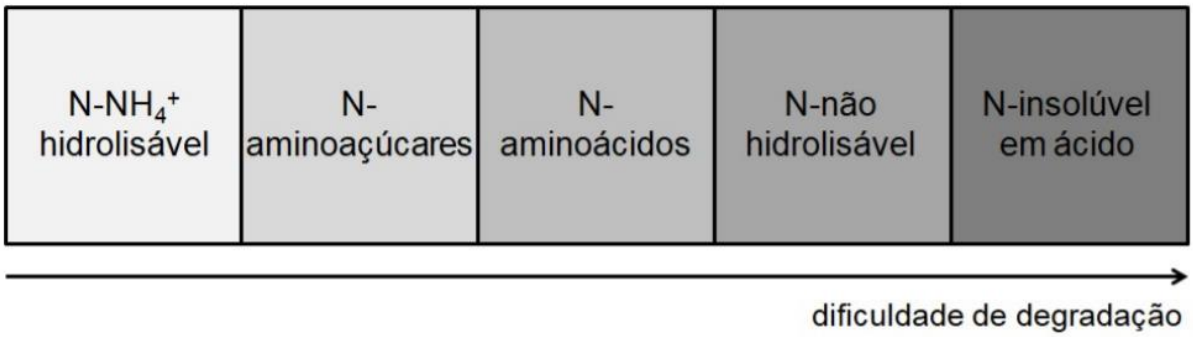

Figura 3. Gradiente de dificuldade de degradação das frações de N orgânico.

Fonte: ADAME (2018).

Assume-se que os açúcares simples, aminoácidos, proteínas e polissacarídeos são as frações mais rapidamente decompostas pelos microrganismos do solo, em períodos que podem variar de horas a dias. Enquanto isso, macromoléculas dos resíduos de plantas precisam primeiro ser quebradas em formas mais simples para posteriormente serem decompostas (Adame, 2018).

Devido a facilidade de decomposição, em muitos trabalhos a fração N-aminoaçúcares é colocada como a que representa melhor o N disponível do solo (Khan et al., 2001), mas este resultado não tem sido confirmado em solos do Brasil (Kuhnen, 2013; Bergamasco, 2015; Adame, 2018). No experimento de Adame (2018) foi feita avaliação das frações do N em solo adubado com esterco bovino, em aplicação única, em amostras que foram incubadas em laboratório. Com outros resíduos, entretanto, os resultados podem ser diferentes, e há necessidade da geração deste tipo de informação para resíduos orgânicos com alto potencial de uso agrícola, em amostras obtidas em experimentos de campo, e com aplicações repetidas no tempo.

Entre os resíduos com maior potencial de uso agrícola está o lodo de esgoto (LE) ou o biossólido, que é um subproduto do tratamento de águas residuárias. O volume deste resíduo que é gerado anualmente está aumentando de forma desenfreada, o que impõe a necessidade de avaliações de sustentabilidade que envolvam diferentes estratégias na disposição final desse material. No Brasil, em 1989, 47,3% dos municípios contavam com serviço de tratamento de esgoto sanitário, mas esse número aumentou para 60,3% em 2017 e, com o novo marco do

saneamento de 2020, deve aumentar ainda mais nos próximos anos (Brasil, 2020; Ding et al., 2021; IBGE, 2017; Singh e Agrawal, 2008; Teoh e Li, 2020).

De maneira geral, aterro, incineração, aplicação agrícola e uso combustível como substituto em processos industriais têm sido os principais destinos do lodo. Embora o aterro seja o destino mais comum, os altos custos de transporte e o desperdício de nutrientes sugerem a necessidade de buscar alternativas de uso. Por isso, devido a suas propriedades como fertilizante, principalmente como fornecedor de N e de P, e por ser um bom condicionar de solos, sua aplicação na agricultura tem sido colocada como a solução mais viável para o problema. Muitas vezes o rendimento das safras é maior em solos adubados com lodo do que em áreas adubadas com fertilizantes tradicionais (Ding et al., 2021; Rovira et al., 2011; Singh e Agrawal, 2008).

A composição do LE é variável em função do tipo de tratamento que ele recebe nas estações. Por isso, a avaliação cuidadosa das características do solo e do lodo deve ser feita previamente para recomendar taxas de aplicação seguras, visto que o LE pode disponibilizar metais tóxicos e perturbar as propriedades do solo com possíveis riscos de contaminação das águas subterrâneas (Brunn et al., 2016; Singh e Agrawal, 2008).

Além das características químicas do solo, outros fatores como local de aplicação, clima, tipo de solo, cultivo e manejo agrícola também interferem nos impactos associados à aplicação do LE, sendo difícil encontrar estimativas eficientes de doses a serem aplicadas, principalmente se for considerada a possibilidade de repetição das aplicações em longo prazo (Brunn et al., 2016).

Um dos fatores mais importantes na determinação da dose de aplicação de LE nos solos é a capacidade do resíduo em fornecer N. Devido ao alto teor de N (0,7 a 15%, com média de 4,1% em base seca), a maior parte das legislações existentes sobre a aplicação de LE em solos levam em consideração o teor desse nutriente como componente limitante, tendo em vista a possibilidade de contaminação pela lixiviação de nitrato em solos de zonas tropicais (Elsalam et al., 2021; Moretti et al., 2013; Rigby et al., 2016).

No Brasil, para permitir a utilização de LE em áreas agrícolas, na Resolução CONAMA 498/2020 (Brasil, 2020) foi estabelecido que as doses de aplicação sejam

as necessárias para atender às exigências de N das plantas, de forma que o manejo não implique em excesso de nitrato no solo. A recomendação, neste caso, é feita com base em estudos de mineralização de N usando ensaios de incubação em laboratório, como os propostos por Stanford e Smith (1972). As taxas de mineralização de lodo disponíveis, no entanto, levam em consideração aplicações isoladas, sem efeito cumulativo.

Embora haja muitos estudos avaliando os efeitos do manejo de N na contaminação por NO_3^-, eles são limitados ao período de crescimento das plantas, o que pode subestimar as perdas por lixiviação que ocorrem entre a colheita e a safra seguinte. Por estar em sua maior concentração na forma orgânica, o N do LE fica disponível para as plantas continuamente à medida que a mineralização ocorre, mesmo quando as plantas não absorvem o N, levando a perda para águas subterrâneas (Basso e Ritchie, 2005; Yoshida et al., 2018).

Em estudos sobre a mineralização do LE foi demonstrado que, apesar da relação C/N ser baixa, entre 70 e 80% do N-orgânico proveniente do LE utilizado como adubo em culturas anuais permanece no solo após cada safra. Embora parte desse nitrogênio continue sendo mineralizado, outra parte persiste nesta forma orgânica no solo, o que acarreta acúmulo.

Conhecer a degradação microbiológica do N orgânico e os efeitos residuais de adições sucessivas pode contribuir na previsão de seu comportamento no solo e na definição de critérios úteis ao estabelecimento das doses máximas a serem aplicadas, maximizando a eficiência da absorção de N pela cultura e minimizando as perdas (Boeira et al., 2002; Dynia et al., 2006; Elsalam et al., 2021).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Histórico das áreas experimentais

Dois experimentos foram instalados em campo, no ano agrícola de 1997/1998, na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) – Unesp, Câmpus de Jaboticabal – SP. O clima da

região é tropical chuvoso com inverno seco (Aw), segundo critérios de classificação de Köppen-Geiger.

Os solos das áreas experimentais foram classificados por Centurion (1998) e, de acordo com a atualização de Santos et al. (2018), recebem as denominações de: Latossolo Vermelho eutroférrico (LVef) e de Latossolo Vermelho distrófico (LVd). As coordenadas locais são 21º14’46,81” S e 48º17’ 07,85” W (LVef), e 21º13’ 57,96” S e 48º17’06,18” W (LVd). As altitudes são de 550m e 618m, nas áreas do LVef e do LVd, respectivamente

No ano de instalação dos experimentos, os tratamentos foram: controle, sem adição de lodo de esgoto (LE) e sem fertilização mineral; 2,5; 5,0 e 10,0 Mg ha^{-1} de LE, expresso em base seca, sendo o LE aplicado a lanço e incorporado com grade na camada de 0-10 cm de profundidade.

A partir do segundo ano agrícola (1998/1999), as parcelas do tratamento controle passaram a ser adubadas com fertilizantes minerais de acordo com a análise de fertilidade do solo e as recomendações de Raij et al. (1997). Para atender a necessidade da cultura do milho, espécie mais frequentemente cultivada, foram aplicados anualmente 30 kg ha^{-1} de N na semeadura e 140 kg ha^{-1} de N em cobertura na forma de sulfato de amônio, considerando classe de resposta alta, com produtividade esperada de 10-12 Mg ha^{-1} de grãos.

A partir do terceiro ano (1999/2000), as parcelas que vinham recebendo 2,5 Mg ha^{-1} passaram a receber 20 Mg ha^{-1} de LE. Deste modo, as doses acumuladas no vigésimo ano foram: 0 Mg ha^{-1} (T0); 100 Mg ha^{-1} (T100); 200 Mg ha^{-1} (T200) e 365 Mg ha^{-1} (T365) de LE. Ambos os experimentos foram instalados em delineamento em blocos ao acaso (DBC), com cinco repetições. As parcelas medem 6 m x 10 m, com área útil de 32 m^2.

Em 17 dos 20 anos de condução do experimento, o milho (*Zea mays* L.) foi a espécie cultivada. Detalhes da sequência de culturas e da origem do lodo de esgoto aplicado nas áreas estão na Tabela 1.

Tabela 1. Ano agrícola do experimento, cultura utilizada e cidade onde foi gerado o lodo de esgoto aplicado.

Ano Agrícola	Cultura	Estação de tratamento fornecedora do Lodo
1997/1998	Milho (*Zea mays L.*)	Barueri – SP
1998/1999	Milho (*Zea mays L.*)	Barueri – SP
1999/2000	Milho (*Zea mays L.*)	Barueri – SP
2000/2001	Milho (*Zea mays L.*)	Barueri – SP
2001/2002	Milho (*Zea mays L.*)	Barueri – SP
2002/2003	Girassol (*Helianthus annuus L*)	Barueri – SP
2003/2004	Crotalária (*Crotalaria juncea L.*)	Barueri – SP
2004/2005	Milho (*Zea mays L.*)	Barueri – SP
2005/2006	Milho (*Zea mays L.*)	Franca – SP
2006/2007	Milho (*Zea mays L.*)	Franca – SP
2007/2008	Milho (*Zea mays L.*)	Barueri – SP
2008/2009	Girassol (*Helianthus annuus L*)	Barueri – SP
2009/2010	Milho (*Zea mays L.*)	Barueri – SP
2010/2011	Milho (*Zea mays L.*)	Monte Alto – SP
2011/2012	Milho (*Zea mays L.*)	Monte Alto – SP
2012/2013	Milho (*Zea mays L.*)	Monte Alto – SP
2013/2014	Milho (*Zea mays L.*)	Monte Alto – SP
2014/2015	Milho (*Zea mays L.*)	Monte Alto – SP
2015/2016	Milho (*Zea mays L.*)	Franca – SP
2016/2017	Milho (*Zea mays L.*)	Monte Alto – SP

Adubações complementares com potássio (K) foram realizadas nos tratamentos T100, T200 e T365 para fornecer a mesma quantidade aplicada no tratamento T0 em todos os anos agrícolas. Foram adicionados, no decorrer dos 20 anos, quantidades de 1.374, 1.367 e 950 kg ha^{-1} de K_2O para as doses de 100, 200 e 365 Mg ha^{-1} de LE.

3.2 Coleta e caracterização do solo das áreas experimentais após 20 anos de aplicação de LE

Um ano após a vigésima aplicação de LE (out-2017) foram coletados cerca de 20 dm^3 de solo, em cada parcela, na camada de 0 a 20 cm. O volume total foi obtido a partir de 20 subamostras coletadas ao acaso, com enxadão. Após secagem ao ar, o solo foi passado em peneira de 4 mm, homogeneizado e amostrado para análise

química, segundo os métodos descritos por Raij et al. (2001), e para caracterização granulométrica e mineralógica, de acordo com Camargo et al. (2009) (Tabela 2).

Tabela 2. Caracterização química, física e mineralógica dos Latossolos após um ano da 20° aplicação de lodo de esgoto (LE).

LE*	P resina	MO	pH	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	H+Al	SB	CTC	V
Mg ha^{-1}	mg dm^{-3}	g dm^{-3}	$CaCl_2$	---------- $mmol_c$ dm^{-3} ----------						%
LVef 2017										
T0	100,2	27	4,8	4,5	26,6	11,4	44,2	42,5	86,7	49
T100	115,8	26	4,9	4,0	32,0	13,8	41,6	49,8	91,4	54
T200	136,4	27	4,7	4,4	32,8	13,0	45,6	50,2	95,8	52
T365	248,8	28	4,3	4,3	35,2	15,2	57,4	54,7	112,1	48
LVd 2017										
T0	92,3	20	4,5	4,3	18,2	6,4	39,4	28,9	68,3	42
T100	115,3	20	4,6	3,2	23,2	7,8	36,4	34,2	70,6	48
T200	308,5	24	4,5	4,2	29,0	9,4	43,6	42,6	86,2	49
T365	320,9	24	4,3	3,7	25,2	8,6	51,6	37,5	89,1	42

Solo	$Fe_2O_{3\ (hematita)}$	Fed	Feo	Ct/(Ct+Gb)	Areia	Silte	Argila
	---------- g kg^{-1} ----------				---------- g kg^{-1} ---------		
LVef	296	76,99	5,58	0,62	364	70	566
LVd	190	50,16	1,7	0,79	652	19	329

H+Al = acidez total do solo; SB = soma de bases; CTC = capacidade de troca de cátions; V% = saturação por bases. Fed = Ferro extraído com ditionito. Feo = Ferro extraído com oxalato. Ct = Caulinita. Gb = Gibbsita. * = Megagramas de LE acumulados nos 20 anos de condução do experimento.

3.3 Caracterização do LE utilizado no 20º ano do experimento

Uma amostra do LE utilizado no 20° ano do experimento foi seca e triturada para determinar os atributos químicos. O pH foi determinado em solução de $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}; carbono (C) e N por combustão seca em equipamento LECO® C/N628 (Leco Corporation, St Joseph, USA), hemicelulose, celulose e lignina pelo método descrito por Van Soest et al. (1991). Os resultados obtidos foram: pH= 6,0; C= 271 g kg^{-1}; N= 47 g kg^{-1}; Hemicelulose= 285 g kg^{-1}; Celulose= 135 g kg^{-1}; Lignina= 101 g kg^{-1}; C/N= 6; Lig/N= 2.

3.4 Preparo das amostras de solo e determinação do N absorvido pelo capim-marandu

3.4.1. Preparo das amostras

Para a instalação dos experimentos em laboratório e em casa de vegetação, os solos coletados no campo, em cada parcela, foram corrigidos e adubados de acordo com a análise química (Tabela 2), para atender as exigências da *Urochloa brizantha* cv. marandu, usada como planta teste.

A calagem, visando elevar o índice de saturação por bases a 60%, foi feita utilizando carbonato de cálcio e hidroxicarbonato de magnésio puros, ajustando a relação Ca:Mg em 2:1.

Foram utilizados na adubação em pré-semeadura: 78,2 mg dm^{-3} de K; 60 ou 80 mg dm^{-3} de P (de acordo com a necessidade de cada amostra observada na análise de solo); 20 mg dm^{-3} de S, 0,05 mg dm^{-3} de Mo e 1 mg dm^{-3} de Cu. Os adubos usados foram: KCl, superfosfato triplo, $CaSO_4$, $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ e $CuSO_4.5H_2O$. Na adubação não foi feita aplicação de N com a finalidade de usar a reserva mineralizável do solo. Foram corrigidos e adubados 3,0 dm^3 de solo, os quais foram transferidos para vasos com capacidade para 3,2 dm^3 e mantidos úmidos a 50% da capacidade de retenção de água por 30 dias. Em seguida foram secos, passados novamente em peneira de 4 mm, homogeneizados e amostrados. As amostras foram passadas em peneira de 2 mm para as análises descritas nos itens 3.5 a 3.7.

Após a amostragem, 2,5 dm^3 de solo foram retornados para os vasos em que foram cultivadas plantas de capim-marandu para determinação do N absorvido.

3.4.2 Determinação do N absorvido

Com os solos já corrigidos foram instalados e conduzidos dois experimentos em casa de vegetação, um para cada solo, em delineamento inteiramente ao acaso, mantendo os quatro tratamentos com cinco repetições provenientes do campo.

A semeadura do capim-marandu foi feita a aproximadamente 0,5 cm de profundidade, com excesso de sementes. Quando as plantas atingiram aproximadamente 5 cm de altura foi realizado o desbaste, deixando quatro plantas

por vaso. Foram realizados três cortes da parte aérea das plantas, o primeiro aos 40 dias após a emergência, e os seguintes, a cada 30 dias. Os dois primeiros cortes foram feitos a 10 cm da superfície do solo, e o último rente à superfície. Após o primeiro e o segundo cortes, foi feita adubação com K (48,87 mg dm^{-3}) e S (20 mg dm^{-3}), visando atender às necessidades das plantas, usando os adubos KCl e $CaSO_4$. As plantas cortadas foram lavadas, secas a 65-70º C até massa constante, pesadas, moídas e analisadas quanto à concentração de N usando digestão sulfúrica (Carmo et al., 2000). A partir da produção de matéria seca e das concentrações de N foi calculado o N absorvido pelas plantas em cada corte e, da soma dos três cortes, o N absorvido total (Nabs) por vaso.

3.5 Determinação de N total e do N orgânico mineralizável pelo método da destilação a vapor direta (N-DVD)

Nas amostras de solo coletadas antes do cultivo do capim-marandu foram determinados os teores de N-total (Cantarella e Trivelin, 2001) e de N orgânico mineralizável pelo método da destilação a vapor direta (N-DVD) (Roberts et al., 2009).

O N-total foi determinado por meio da digestão sulfúrica de 0,5 g de solo passado em peneira de 100 mesh com 7 mL de mistura digestora (H_2SO_4 + $CuSO_4.5H_2O$ + SeO_2 + Na_2SO_4 + água). Após a digestão a frio por uma noite, o material foi digerido em bloco digestor iniciando a 100 ºC por 30 min. A cada 30 min a temperatura foi aumentada em 50 ºC até atingir 330 °C, na qual permaneceu por 2 horas. Após clarear e resfriar, o extrato foi transferido para tubo de destilação com auxílio de pequenas quantidades de água deionizada.

O tubo foi conectado ao destilador e 10 mL de solução de NaOH 18 mol L^{-1} foram adicionados. A destilação seguiu até a coleta de aproximadamente 40 mL em béquer previamente contendo 10 mL de H_3BO_3 20 g L^{-1}. A determinação foi realizada em titulador automático empregando solução de H_2SO_4 0,01 mol L^{-1}.

Para a determinação do N orgânico mineralizável, 1 g de solo foi transferido para tubo macro (25 cm de altura e 5 cm de diâmetro, com volume de 500 mL), o qual foi conectado ao destilador e recebeu 10 mL de solução de NaOH 10 mol L^{-1}. A

destilação seguiu até a obtenção de aproximadamente 40 mL em béquer contendo 10 mL de solução de H_3BO_3 20 g L^{-1}. A quantificação do $N\text{-}NH_4^+$ foi realizada em titulador automático, com solução de H_2SO_4 0,0055 mol L^{-1}.

3.6 Determinação da taxa de mineralização do nitrogênio

A taxa de mineralização de N dos solos foi determinada usando as amostras de solo coletadas antes do cultivo do capim-marandu, obedecendo à norma técnica P4.233 (Cetesb, 1999), para aplicação de lodos em solos agrícolas, com modificações.

Foram usadas colunas de vidro para lixiviação, com capacidade para 100 mL (18 cm de comprimento x 2 cm de diâmetro), para as quais foram transferidos 15 g de solo misturados com 15 g de areia (diâmetro entre 0,297 e 0,5 mm) lavada com solução de HCl 0,1 mol L^{-1} e água desionizada. A mistura solo + areia foi colocada entre camadas de lã-de-vidro de 30 mm e 10 mm, inferior e superior, respectivamente.

As colunas foram colocadas em câmara do tipo BOD a 28 ºC e nos tempos 0, 14, 28, 42, 84, 112, 154 e 210 dias de incubação ocorreram a extrações do N-mineral do solo por percolação de 100 mL de solução de $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}. Nos extratos, as formas minerais de N ($N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$) foram determinadas por destilação a vapor, em cada tempo de coleta, como descrito por Cantarella e Trivelin (2001). Em cada coluna, após a lixiviação, foi feita aplicação de 25 mL de solução nutritiva sem N [$CaSO_4.2H_2O$ 0,002 mol L^{-1}; $MgSO_4.7H_2O$ 0,002 mol L^{-1}; $Ca(H_2PO_4)_2.H_2O$ 0,005 mol L^{-1} e K_2SO_4 0,0025 mol L^{-1}] seguida de aplicação de vácuo, empregando aproximadamente 0,067 MPa, visando eliminar o excesso da solução nutritiva e ajustar a umidade do sistema.

3.7 Fracionamento do N orgânico do solo

O fracionamento do N orgânico foi feito nas amostras de solo coletadas, empregando o método proposto por Mulvaney e Khan (2001).

3.7.1 Formas do nitrogênio orgânico avaliadas

No fracionamento são obtidos, inicialmente, o hidrolisado ácido (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^+ + N-Aaç), N-aminoácidos (N-Aa) e N-total hidrolisável (NT-hid). A fração N-aminoaçúcares (N-Aaç) foi obtida por diferença [(NH_4^+ + N-Aaç) - NH_4^+-hid] e as formas de N-não identificado (N-NI) foram calculadas pela diferença entre o N-total hidrolisável e a soma das frações NH_4^+-hid + N-Aa + N-Aaç. No resíduo sólido foi determinado o N insolúvel em ácido (N-IA).

3.7.2 Obtenção do hidrolisado ácido

Para tubos de digestão foram transferidos 5 g de solo, 20 mL de solução de HCl 6 mol L^{-1} e duas gotas de álcool octil. Os tubos foram colocados em bloco digestor pré-aquecido a 110-120º C, foram parcialmente fechados com um funil de vidro pequeno, e mantidos nesta temperatura por 12 horas.

Após resfriamento das amostras, foi feita filtragem do hidrolisado através de papel de filtro Whatman no. 50, com 12,5 cm de diâmetro, previamente seco em estufa (105°C por 1 hora) e pesado. Todo o material contido no tubo foi transferido para o papel, com pequenas quantidades de água desionizada. Como a filtragem é lenta, foi usado o período noturno, e o filtrado foi coletado em frasco de plástico. No dia seguinte, fez-se o ajuste do valor de pH do hidrolisado transferindo-o para béquer de vidro de 150 mL. O ajuste foi feito inicialmente com solução de NaOH 10 mol L^{-1} até aproximadamente pH 5,0 e, a partir deste valor, com adição gota a gota sob agitação, de solução de NaOH 1 mol L^{-1}, até obtenção de pH 6,5 a 6,8 (Bremner, 1965; Stevenson, 1996). Após o ajuste do valor de pH, o hidrolisado foi transferido para balão volumétrico com capacidade para 100 mL, o volume foi completado com água desionizada, e o hidrolisado foi armazenado em frasco de vidro e mantido sob refrigeração (5° C) até análise.

3.7.2.1 Determinação das frações de N no hidrolisado ácido

a) N-NH_4^+ hidrolisável (NH_4^+-hid): Foram transferidos 10 mL de hidrolisado para câmaras de difusão com capacidade para 473 mL e fechamento hermético (Mason jar). Ao hidrolisado foi feita adição de 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}. Após a homogeneização e o fechamento, os recipientes foram mantidos em chapa aquecedora a 48-50°C por 2 h. Os béqueres foram retirados 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.

b) N-NH_4^+ hidrolisável + N-aminoaçúcares (NH_4^+ + N-Aaç): Foram utilizados 10 mL do hidrolisado de solo e 2 mL de solução de NaOH 10 mol L^{-1}, os quais foram transferidos para as câmaras de difusão descritas em a. A mistura, já homogeneizada, foi mantida em chapa aquecedora por 5 h a 48-50°C. Na determinação do N-NH_4^+ foi adotado o mesmo procedimento descrito para o N-NH_4^+ hidrolisável.

c) N-aminoácidos (N-Aa): Ao mesmo hidrolisado da fração anterior, após a completa difusão do N-(NH_4^+ + 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 e mantidos por 90 min em chapa aquecedora a 95-100° C. Após resfriamento da amostra foi adicionado 1 mL de solução de NaOH 10 mol L^{-1}, e os recipientes foram novamente fechados com a tampa adaptada contendo um béquer. No béquer, como nas outras frações, foram colocados 5 mL de solução de H_3BO_3, para adsorção de N-NH_4^+. Os extratos foram reaquecidos em chapa aquecedora a 48-50°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 foram transferidos 5 mL de hidrolisado, 0,5 g de mistura de K_2SO_4 com catalisadores (preparada com 200 g de K_2SO_4 + 25 g de $CuSO_4.5H_2O$ + 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 foi colocado um funil de vidro (25 mm de diâmetro) para garantir refluxo eficiente do

líquido durante a digestão e restringir perdas. 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 feito de 50 em 50° C, a cada 30 min, até atingir 300° C e, em 30 min, 330ºC. Para finalização da digestão, após o clareamento dos extratos, as amostras foram mantidas a 330° C por mais 2 h. Após o resfriamento, todo o extrato foi transferido para as câmaras de difusão, com auxílio de pequenas quantidades de água desionizada. As paredes das câmaras também foram lavadas com 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. Os recipientes foram mantidos em chapa aquecedora por 4 h a 48-50° C. A determinação do $N\text{-}NH_4^+$ seguiu o mesmo procedimento descrito para o $N\text{-}NH_4^+$ hidrolisável.

e) N-não identificado (N-NI): Essa forma foi calculada pela diferença entre o N-total hidrolisável e a soma das frações $N\text{-}NH_4^+$hid + N-Aa + N-Aaç.

3.7.2.2 Determinação do N insolúvel em ácido (N-IA)

No resíduo sólido retido no papel de filtro após a filtragem do hidrolisado ácido foi feita a determinação do N insolúvel em ácido (N-IA). 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. Na determinação foram utilizados 1 g de resíduo seco, 1,5 g de K_2SO_4 com catalisadores, 1 mL de peróxido de hidrogênio (300 mL L^{-1}) e 2 mL de H_2SO_4 concentrado. A digestão foi feita como descrito para a fração N-total hidrolisável e a determinação de $N\text{-}NH_4^+$ seguiu o mesmo procedimento descrito para o $N\text{-}NH_4^+$ hidrolisável.

3.8 Forma de análise dos resultados

O teste W de Shapiro-Wilks e o teste de Bartlett foram usados para verificação da normalidade dos dados e da homocedasticidade das variâncias.

O Nabs foi avaliado para cada solo, em esquema fatorial 4 x 3, sendo quatro doses de LE combinadas com três épocas de coleta. A análise de variância (teste F)

foi feita considerando delineamento em blocos casualizados e, em caso de significância, comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os dados obtidos para N-total, N-DVD e para as formas obtidas no fracionamento do N orgânico, para cada solo, foram avaliados em blocos casualizados, sendo quatro doses de LE e cinco repetições. Os efeitos de doses foram comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As análises foram realizadas com o auxílio do programa Agroestat ® (Barbosa e Maldonato, 2015).

Os dados de N-inorgânico mineralizado ($N\text{-}NH_4^+ + N\text{-}NO_3^-$) em função do tempo foram ajustados à equação de regressão exponencial cinética de primeira ordem (Stanford e Smith, 1972), conforme a equação:

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

Em que:
Nm= N-inorgânico mineralizado (mg kg^{-1}) no tempo t (dias);
N_0= N-potencialmente mineralizável (mg kg^{-1});
k = constante de mineralização ($dias^{-1}$).

A partir do modelo de regressão exponencial ajustado foi estimado o tempo de meia vida, T½, que é o tempo necessário para que metade do N_0 seja mineralizado:

$T½ = 0,693/k$.

As medidas de N-total, N-DVD, N-mineralizado e formas de N foram correlacionadas com o N abs. Nestes cálculos foram usados os dados dos dois solos conjuntamente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 N-abs acumulado na parte aérea das plantas

O N absorvido (Nabs) pelas plantas de *Urochloa brizantha* cv. Marandu em função das doses de LE, em cada solo, está na Tabela 3. Os maiores acúmulos de N foram observados nos tratamentos que receberam a maior dose do resíduo, em ambos os solos, e no primeiro corte. Ao comparar os cortes, o segundo e o terceiro não se diferenciaram estatisticamente para ambos os Latossolos avaliados.

Os valores acumulados variaram de 202,99 a 467,39; 20,24 a 76,53 e 24,47 a 85,33 mg/vaso no primeiro, segundo e terceiro cortes, respectivamente, nas plantas que cresceram no LVd. No LVef, a variação foi de 275,64 a 573,06; 42,74 a 116,76 e 36,82 a 74,18 mg/vaso, também para o primeiro, segundo e terceiro cortes, respectivamente. No LVd, em todos os cortes, as doses de 200 e 365 Mg ha^{-1} de LE não diferiram entre si, mas diferiram do tratamento controle e da dose de 100 Mg ha^{-1} de LE no primeiro e segundo cortes. No LVef, por outro lado, apenas a maior dose aplicada (365 Mg ha^{-1} de LE) apresentou diferença das demais, demonstrando que a aplicação de 100 ou 200 Mg ha^{-1} de LE, nesse caso, não tem efeito no acúmulo de N pelas plantas que receberam ou não a aplicação do resíduo, em comparação a adubação com fertilizante industrial.

A justificativa para esta resposta deve-se ao fato de que o resíduo causou aumento nos teores de MOS proporcional às doses no LVd, mas no LVef, apenas a maior dose (365 Mg ha^{-1} de LE) ocasionou aumento da MOS no decorrer dos 20 anos de aplicação do LE (Rocha, 2020). Como a MOS é o principal reservatório de N do solo, nos tratamentos em que a MOS não aumentou, a reserva de N é equivalente à existente no tratamento controle. Os teores de N total também refletiram tal fato (Tabela 4).

Tabela 3. Nitrogênio absorvido (Nabs) por plantas de *Urochloa brizantha* cv. Marandu em Latossolo Vermelho distrófico (LVd) e em Latossolo Vermelho eutroférrico (LVef) com aplicação de lodo de esgoto (LE) por 20 anos.

LE	LVd			LVef		
	1º Corte	2º Corte	3º Corte	1º Corte	2º Corte	3º Corte
Mg ha^{-1}	---------- Nabs mg $vaso^{-1}$ N ----------					
0	202,99 Ba	20,24 Bb	24,47 Cb	280,84 Ba	42,74 Bb	36,82 Bb
100	227,99 Ba	25,29 Bb	39,88 BCb	275,64 Ba	51,12 Bb	37,00 Bb
200	456,30 Aa	60,33 Ab	62,75 ABb	336,06 Ba	48,90 Bb	40,64 Bb
365	467,39 Aa	76,53 Ab	85,33 Ab	573,06 Aa	116,76 Ab	74,18 Ab
CV (%)	9,99			8,84		

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença na coluna e letras minúsculas diferentes indicam diferença na linha, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: Coeficiente de variação.

4.2 N-DVD e N total do solo

Os teores de N-DVD no LVd e LVef (Tabela 4) apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, sendo os maiores teores de N quantificados nas maiores doses aplicadas (365 Mg ha^{-1} de LE) para os dois solos. Os teores variaram de 107 a 198 mg kg^{-1} e 155 a 219 mg kg^{-1} N no LVd e no LVef respectivamente. Solos com aplicações de LE diferem de solos sem a aplicação do resíduo, com tendência a ter maior teor de MOS, com taxas variáveis de decomposição, maior concentração de nutrientes e maior atividade microbiana (Elsalam et al., 2021), o que justifica o aumento dos teores com o aumento das doses.

Tabela 4. Teores de N-DVD e N total de Latossolo Vermelho distrófico (LVd) e de Latossolo Vermelho eutroférrico (LVef) com aplicação de lodo de esgoto (LE) por 20 anos.

	LE (Mg ha^{-1})	N - DVD	N - Total
		mg kg^{-1}	
LVd	0	107,0 b	833,8 c
	100	131,2 b	1064,8 b
	200	194,6 a	1458,8 a
	365	198,0 a	1585,8 a
	CV (%)	8,24	79,28
LVef	0	155,0 b	1483,2 b
	100	204,8 ab	1622,0 b
	200	185,2 ab	1556,8 b
	365	218,8 a	2011,4 a
	CV (%)	6,13	17,36

Letras minúsculas diferentes indicam diferença na coluna, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: Coeficiente de variação.

Os teores de N-DVD foram semelhantes às quantidades de N absorvidas pelo capim-marandu, particularmente nas doses 200 e 365 Mg ha^{-1}, em ambos os solos (Figuras 4 e 5). No LVd o Nabs correspondeu a 72, 92, 94 e 105% do N-DVD, e no LVef, a 68, 56, 72 e 110% do N-DVD, em função dos tratamentos 0, 100, 200 e 365 Mg ha^{-1} de LE, respectivamente. De acordo com os autores do método, com a hidrólise alcalina por destilação a vapor direta usando solução de NaOH 10 mol L^{-1} extraem-se o N-NH_4^+, o N associado a fração aminoaçúcares, que é referência de N-disponível, e parte da fração N-aminoácidos (Roberts et al., 2013).

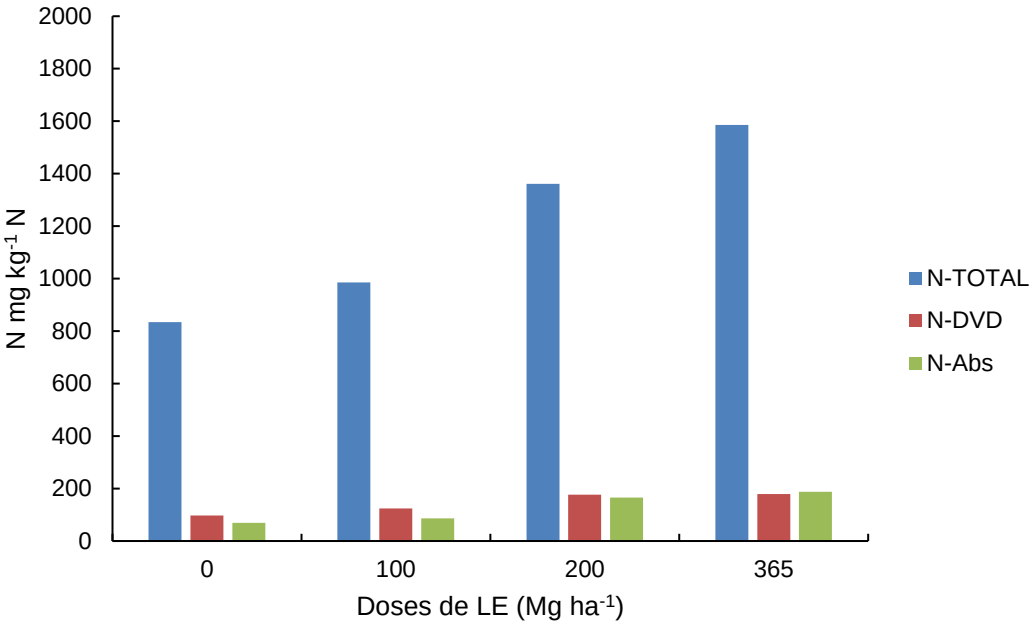

Figura 4. N-total e N-DVD nas amostras de solo e N absorvido pelo capim-marandu, em mg kg^{-1}, no LVd adubado com doses de lodo de esgoto por 20 anos.

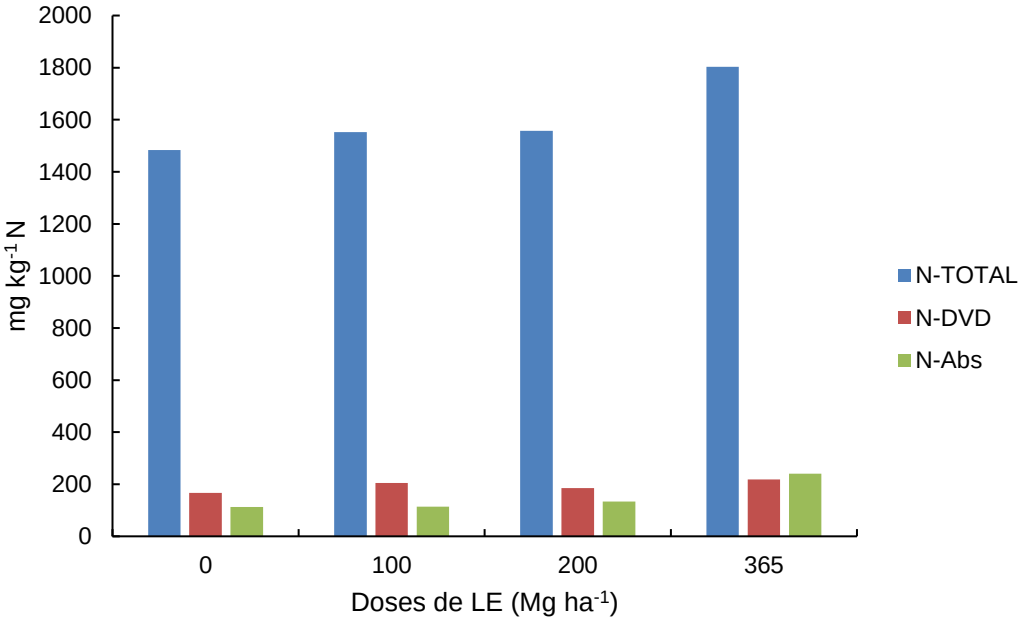

Figura 5. N-total e N-DVD nas amostras de solo e N absorvido pelo capim-marandu, em mg kg^{-1}, no LVef adubado com doses de lodo de esgoto por 20 anos.

Os teores de N-total do solo diferiram para as doses de LE aplicadas nos dois solos, mas no LVd, os teores apresentaram diferença significativa nos tratamentos

200 e 365 Mg ha^{-1} de LE em relação aos demais, enquanto no LVef apenas a maior dose apresentou diferença (Tabela 4). Como se observa na Tabela 4, os teores de N-total do solo variaram de 833,8 a 1.586 mg kg^{-1} de N no LVd e de 1.483 a 2.011 mg kg^{-1} de N no LVef. As quantidades totais absorvidas representaram 8, 9, 12 e 12% do N-total no LVd e 8, 7, 9 e 13% do N total no LVef (Figuras 4 e 5), respectivamente em relação às doses 0, 100, 200 e 365 Mg ha^{-1} de LE.

4.3 Mineralização de N

O modelo proposto por Stanford e Smith (1972) descreveu adequadamente os dados de mineralização do N, com coeficientes de determinação significativos a 1% e 5% de probabilidade, para ambos os solos (Figuras 6 e 7).

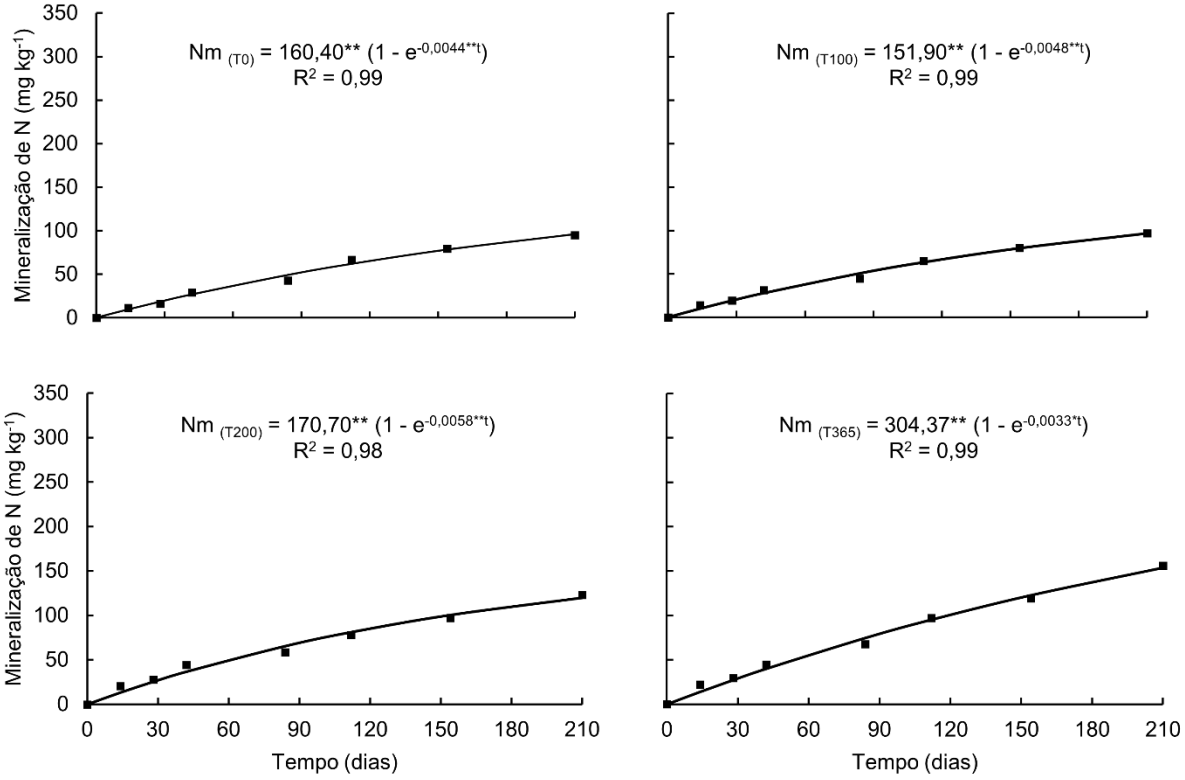

Figura 6. Mineralização de N (mg kg^{-1}) observada e estimada de acordo com a regressão exponencial ao longo de 210 dias de incubação de quatro doses de lodo de esgoto em LVd. Os pontos correspondem aos dados observados e as linhas aos valores estimados pela regressão. N_m= N-inorgânico mineralizado (mg kg^{-1}); t= tempo ($dias^{-1}$); N_0= N-potencialmente mineralizável (mg kg^{-1}); k = constante de mineralização ($dias^{-1}$); T0= Controle; T100= 100 Mg ha^{-1}; T200= 200 Mg ha^{-1}; T365= 365 Mg ha^{-1} lodo de esgoto. ** = significativo a 1% de probabilidade. * = significativo a 5% de probabilidade. R^2= Coeficiente de determinação.

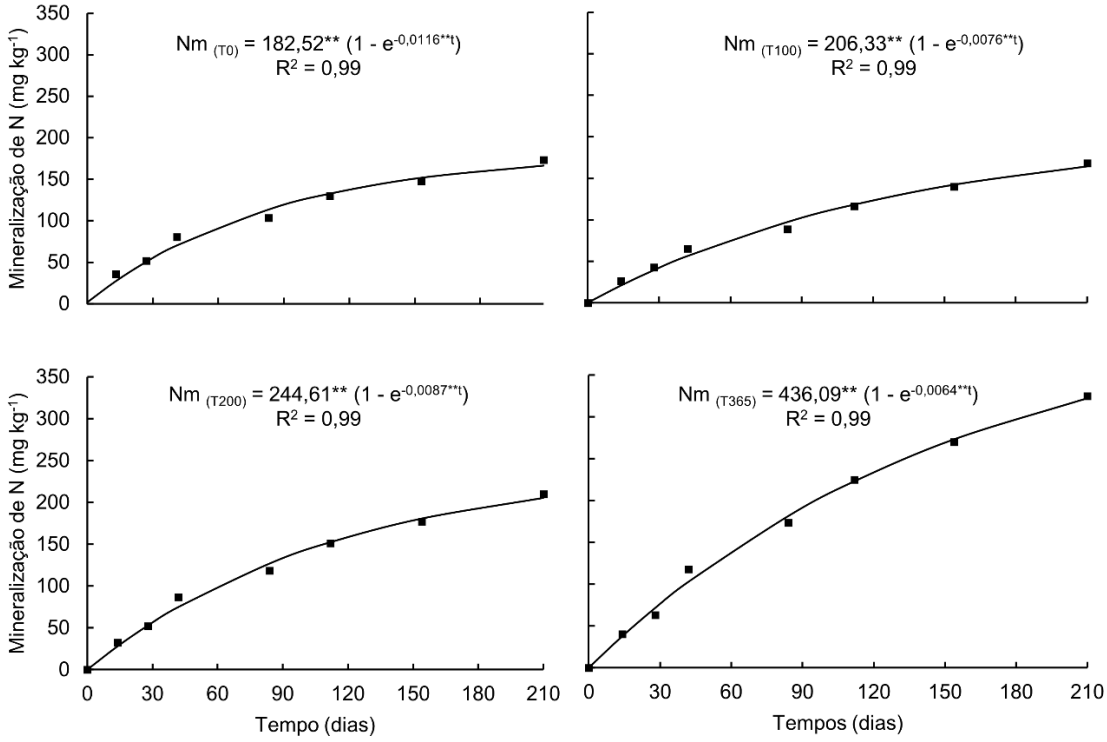

Figura 7. Mineralização de N (mg kg^{-1}) observada e estimada de acordo com a regressão exponencial ao longo de 210 dias de incubação de quatro doses de lodo de esgoto em LVef. Os pontos correspondem aos dados observados e as linhas aos valores estimados pela regressão. N_m= N-inorgânico mineralizado (mg kg^{-1}); t= tempo ($dias^{-1}$); N_0= N-potencialmente mineralizável (mg kg^{-1}); k = constante de mineralização ($dias^{-1}$); T0= Controle; T100= 100 Mg ha^{-1}; T200= 200 Mg ha^{-1}; T365= 365 Mg ha^{-1} lodo de esgoto. ** = significativo a 1% de probabilidade. * = significativo a 5% de probabilidade. R^2= Coeficiente de determinação.

Como observado nas Figuras 6 e 7, não houve estabilização do N mineralizado do LE aos 210 dias de incubação para ambos os Latossolos. Esse fato pode ser explicado pela mineralização contínua de formas recalcitrantes de N orgânico, ou em função das características do método de incubação aeróbia, visto que esse comportamento também foi observado no tratamento controle.

Em alguns estudos foi demonstrado que no método de incubação proposto por Stanford e Smith (1972) ocorre remoção de N orgânico solúvel durante a lixiviação. Este conjunto de formas solúveis, que é facilmente mineralizável, não é contabilizado, subestimando a mineralização de N nos tempos subsequentes (Mulvaney et al., 2016; Smith et al., 1980; Dessureault-Rompré et al., 2018). Em outros estudos, entretanto, foi demonstrada a possibilidade de superestimação da mineralização pela manutenção de temperatura constante a 35ºC, pela variação

pequena na umidade e pelo aumento da aeração dos sistemas a partir da mistura com areia lavada (Yagi et al., 2009; Wang et al., 2003). Estes problemas, no presente experimento, foram parcialmente resolvidos empregando temperatura de incubação de 28^{o}C, conforme norma técnica P4.233 da CETESB (1999).

Wang et al. (2003) também relataram uma possível superestimação do N mineralizado devido, entre outros fatores, a remoção de materiais tóxicos que inibiriam a mineralização, mas principalmente pela remoção de carbono (C) do sistema que, de outra forma, poderia promover a imobilização.

A mineralização acumulada de N variou entre os tratamentos sem adição de LE e os que receberam aplicação de 365 Mg ha^{-1}, sendo 96,7 e 153,6 mg kg^{-1} para o LVd (Figura 6) e 164,5 e 322,4 mg kg^{-1} para o LVef (Figura 7).

No que se refere ao N potencialmente mineralizável (N_0), as doses 365 e 200 Mg ha^{-1} do LVd foram 89,4 e 6,4%, maiores, respectivamente, quando comparadas ao tratamento controle. A dose de 100 Mg ha^{-1} apresentou decréscimo de 5,32% quando comparada ao tratamento controle, indicando imobilização. No LVef, o N potencialmente mineralizável (N_0) foi maior em todos os tratamentos, quando comparado ao controle, sendo 138,9; 34,0 e 13,1% para os tratamentos 365, 200 e 100 Mg ha^{-1}, respectivamente.

Houve aumento do N mineralizado com o aumento das doses de lodo, o que indica que as doses e a frequência de aplicação que estão sendo usadas nos experimentos não afetaram negativamente a atividade microbiana, visto a sensibilidade dos microrganismos a aplicações de LE (Ryan et al., 1973), que pode conter compostos tóxicos. As maiores quantidades de N mineralizadas aos 210 dias ocorreram no LVef, argiloso, em relação ao LVd, areno-argiloso, contrariando as expectativas. A mineralização dos resíduos orgânicos e da MOS é maior em solos de textura grosseira do que em solos de textura fina (Feller e Beare, 1997; Hassink, 1994) porque, entre outros argumentos: (i) solos com textura arenosa, mais aerados, podem ter aumento da mineralização quando tratados com LE (Hall 1983; Hernández et al., 2002) ou outros resíduos orgânicos; (ii) as argilas protegem as partículas orgânicas do ataque microbiano (Zech et al., 1997) e, conforme relatado por Hassink (1994), a mineralização do N da MOS durante incubação é tanto menor quanto maiores forem os teores de argila + silte.

Comportamento contrário, entretanto, é justificado pelo fato da taxa de mineralização do N em solos que recebem adubos orgânicos depender não somente dos atributos físicos do solo, como também atributos químicos (Chae e Tabatabai, 1986), dentre eles a MOS (Rigby et al., 2013).

Rigby et al (2013) verificaram que as taxas de mineralização e nitrificação de N em solos que receberam aplicações de LE estão mais intimamente relacionadas ao conteúdo de MOS e atividade microbiana do que a textura. Quanto maior o teor de MOS, mais favorável o ambiente físico-químico do solo e, espera-se, maior será a atividade microbiana. Consequentemente, maiores e mais rápidas serão as transformações mediadas por microrganismos.

Como no LVef o teor de MOS é 7 g dm^{-3} maior do que no LVd (tratamento controle, Tabela 2), os argumentos apresentados podem ser usados para explicar o resultado obtido. A favor destes argumentos tem-se que, no decorrer dos vinte anos de condução dos experimentos, o teor de MOS aumentou no LVd proporcionalmente ao aumento das doses de LE. No LVef, entretanto, o teor de MOS aumentou apenas com a aplicação da maior dose (Rocha, 2020). Foi relatada maior quantidade de N mineralizado em solo argiloso que recebeu aplicação de LE (Corrêa et al., 2012) e, para outros resíduos adicionados ao solo, maiores taxas de mineralização foram relatadas para solos de textura fina, que apresentavam maior saturação de carbono nas partículas de argila (Matus e Maire, 2000). Solos com maior teor de MOS apresentam menor capacidade de adsorção de compostos orgânicos porque há menos sítios de ligação disponíveis, o que mantém os compostos orgânicos livres e mais vulneráveis à mineralização (Matus e Maire, 2000). Deste modo, a maior taxa de mineralização de N em solos argilosos geralmente está associada aos maiores teores de MOS, devido à maior atividade microbiana no solo (Rigby et al., 2013; Yada et al., 2015) e à maior saturação de carbono (Matus e Maire, 2000).

O efeito de textura pode também ter sido afetado pelas condições de incubação, desagregação das amostras e mistura de areia com os solos, uma vez que, ao misturar o solo argiloso com a areia, há aumento na aeração.

A menor mineralização e nitrificação de N no LVd podem também ser explicadas pelo menor acúmulo de N orgânico nesse solo em comparação ao LVef. Outra justificativa é o comportamento da população microbiana do solo,

possivelmente afetada pela aplicação do resíduo. Em função da origem do LE, altos teores de metais potencialmente tóxicos podem estar presentes e, após sucessivas aplicações, interferir negativamente na atividade microbiana do solo (Speir, 2008; Singh e Agrawal, 2008). No LVd tem-se maior potencial para efeitos tóxicos de metais porque nele há menor adsorção e, consequentemente, maior disponibilidade desses metais.

O tempo de meia-vida para a mineralização de N variou entre 60 (T0) e 109 (T365) dias e entre 121 (T200) e 207 (T365) dias para os solos LVef e LVd, respectivamente (Figura 8).

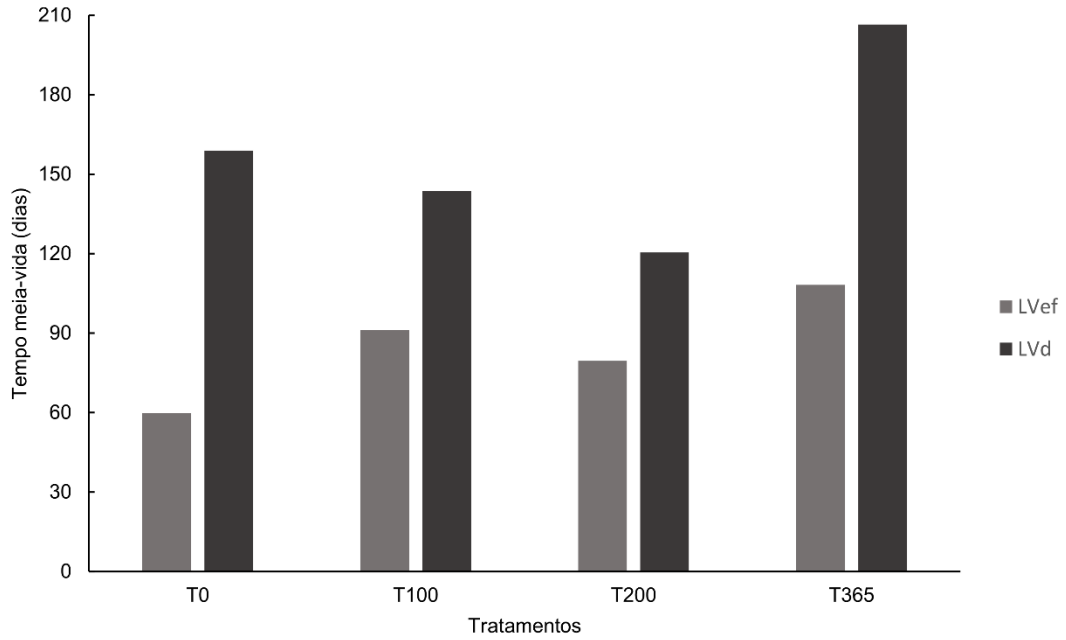

Figura 8. Tempo de meia-vida para a mineralização do N em amostras submetidas a 210 dias de incubação em laboratório provenientes de experimentos de campo com 20 aplicações anuais de lodo de esgoto em Latossolo Vermelho Distrófico (LVd) e em Latossolo Vermelho Eutroférrico (LVef). T0= Controle; T100= 100 Mg ha^{-1} de lodo de esgoto; T200= 200 Mg ha^{-1}; T365= 365 Mg ha^{-1}.

A mineralização líquida (N-mineralização bruta dos tratamentos adubados com LE - N mineralizado no solo incubado sem adição de adubo orgânico) apresentou grande variação entre os tratamentos e os solos estudados (Tabela 5). Ela foi maior nos tratamentos com aplicação de 365 Mg ha^{-1} de LE em ambos os

Latossolos, sendo 121,8% maior do que a observada no tratamento 200 Mg ha^{-1} no LVd e 313,1% maior no LVef.

Tabela 5. N mineralizado líquido e teores de N-amônio e N-nitrato até os 210 dias de incubação de um Latossolo Vermelho distrófico (LVd) e um Latossolo Vermelho eutroférrico (LVef) com aplicação de LE por 20 anos consecutivos.

Dose	N mineralizado líquido					
	LVd	LVef	$N\text{-}NH_4^+$		$N\text{-}NO_3^-$	
			LVd	LVef	LVd	LVef
	---------- mg kg^{-1} ----------					
100	1,84 Ba	-1,23 Ca	18,63	22,87	78,33 Bb	147,98 Ca
200	28,35 Ba	37,26 Ba	16,61	20,58	106,86 ABb	188,75 Ba
365	62,87 Ab	153,91 Aa	24,10	26,22	133,89 Ab	299,76 Aa

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença na coluna e letras minúsculas diferentes indicam diferença na linha, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Durante a condução do experimento, em ambos os Latossolos houve predomínio de N na forma de NO_3^- para todos os tratamentos (Tabela 5). Os teores de nitrato no LVef, que variaram entre 147,98 mg kg^{-1} no tratamento T100 e 299,76 mg kg^{-1} no T365, foram maiores do que os observados no LVd para todos os tratamentos, que apresentaram variação entre 78,33 e 133,89 mg kg^{-1} nos tratamentos T100 e T365, respectivamente. Para os teores de $N\text{-}NH_4^+$ (Tabela 5) a análise de variância não foi significativa ($p>0,01$), de modo aposto ao que foi observado para os teores de $N\text{-}NO_3^-$, que foram maiores no tratamento 365 Mg ha^{-1} para ambos os solos.

Boeira et al. (2002) observaram a predominância de N mineral na forma de $N\text{-}NH_4^+$ nas primeiras semanas de experimento, com decréscimo ao longo do tempo, que foi acompanhado de aumento nos teores de N - (NO_3^- + NO_2^-). É importante destacar que os solos avaliados receberam a última aplicação de LE um ano antes da coleta das amostras, sendo esta realizada após a primeira chuva de verão, condições que favorecem maiores teores de $N\text{-}NO_3^-$ em relação ao $N\text{-}NH_4^+$. Além disso, o solo foi desagregado para passar em peneira de 2 mm e, consequentemente, houve exposição de MOS lábil, que em condições naturais encontrava-se protegida nos agregados, o que pode superestimar a mineralização (Dynia et al., 2006; Ross et al., 1985), além das alterações das condições originais causadas pela mistura do solo com areia lavada (Yagi et al., 2009).

Wu et al. (2008) destacam que nos experimentos de incubação há condições de temperatura e umidade ideais para os processos de amonificação e nitrificação, o que pode não representar a mineralização de N do solo em condições de campo.

A favor desse argumento, tem-se o estudo realizado por Er et al. (2005), no qual os autores verificaram que, dentre os fatores que mais influenciam a taxa de mineralização do N em solos que recebem aplicação de LE, a temperatura explicou 17,6% dos resultados obtidos, efeito menor apenas em relação a taxa de aplicação do resíduo (34,1%) e a relação C/N (35,3%).

4.4 Frações do N orgânico

Os teores de N orgânico nos dois Latossolos variaram entre as frações analisadas de acordo com a dose de LE para ambos os solos (Tabela 6).

O teor de N hidrolisável ($N\text{-}NH_4^+$) do LVd foi maior no tratamento com aplicação de 365 Mg ha^{-1} de LE em relação ao controle, com aumento de 62,34 mg kg^{-1} de N. No LVef, não houve diferença entre as doses de LE.

O $N\text{-}NH_4^+$ hidrolisável pode ter origem no solo do íon livre na solução, da quebra parcial de amidas, aminoácidos e aminoaçúcares e da desaminação de purinas e pirimidinas (Schnitzer e Hindle, 1980), assim como da liberação do NH_4^+ que estava adsorvido, durante a hidrólise ácida (Stevenson, 1996). Devido aos baixos teores de $N\text{-}NH_4^+$ que foram determinados no LVd e no LVef, admite-se que as concentrações de $N\text{-}NH_4^+$ hidrolisável obtidas tenham sido originadas da hidrólise de compostos orgânicos, tornando essa fração o reservatório mais instável de N do solo. Integrada às frações de labilidade intermediária, como o N-Aaç, o $N\text{-}NH_4^+$ hidrolisável é constantemente associado ao N disponível às plantas, por ser facilmente degradável (Otto et al., 2013).

Na fração N-Aaç houve diferença entre as doses de LE utilizadas apenas para o LVef, sendo a maior no tratamento com aplicação de 365 Mg ha^{-1} de LE em relação ao tratamento controle. Stevenson (1982) relatou teores de N-Aaç variando entre 5 e 10% na hidrólise ácida do solo, mas nos resultados do presente trabalho, os teores de N-Aaç foram muito maiores (entre 24,59-44,83%), demonstrando que os valores variam de acordo com os solos estudados.

O N-Aaç do solo é de origem microbiana, derivado das paredes celulares bacterianas e fúngicas, e reflete a atividade microbiana no solo. Por isso, estratégias de manejo do solo que favorecem as populações microbianas que sintetizam essa fração durante a decomposição de resíduos vegetais podem gerar aumento nos seus teores. A análise de N-Aaç é útil para determinar o efeito acumulativo dos restos da parede celular dos microrganismos e representar as alterações microbianas do solo em médio e longo prazos (Stevenson, 1982; Wang et al., 2010; Peltre et al., 2017).

Solos subtropicais e tropicais, geralmente mais ácidos, tendem a apresentar percentagens mais altas de N-Aaç em relação aos solos de clima temperado, justificados por Stevenson (1982) devido à intensa decomposição e reciclagem de MOS em climas mais quentes, com preservação seletiva de N-Aaç.

A fração N-Aa no LVd apresentou diferença entre o tratamento sem aplicação do resíduo e o tratamento 200 Mg ha^{-1} de LE, com aumento de 116,5 mg kg^{-1} de N. Para a mesma fração, mas no LVef, não houve diferença entre doses de LE.

Stevenson (1982) indicou valores de N-Aa variando entre 30-45% na hidrólise ácida do solo, mas os valores observados no presente trabalho são, de maneira geral, menores (entre 15,52-33,27), possivelmente ocasionados pela recuperação incompleta de aminoácidos de solos com altos teores de argila.

Diversos fatores complexos podem afetar a distribuição de aminoácidos nos solos. Estudos apontam que a hidrólise ácida subestima o N-Aa por três motivos principais: i) parte dos aminoácidos ligados aos minerais de argila e os quimicamente ligados aos ácidos húmicos podem não ser liberados por hidrólise ácida; ii) parte do amônio que é liberado durante a hidrólise é proveniente das amidas asparagina e glutamina; e iii) porque o N-IA contém materiais proteicos que são fisicamente protegidos por oclusão ou ligação a minerais de argila (Leinweber e Schulten, 1998; Lipson e Nasholm, 2001).

Em solos de clima tropical pode ocorrer ainda a diminuição da porcentagem de aminoácidos dos solos quando comparado aos solos de clima temperado, devido à maior atividade microbiana, que ocasiona rotatividade mais extensa de material proteico, com preservação de compostos básicos devido às interações com outros componentes do solo. Entretanto, condições contrárias também são relatadas, visto

que a intensa atividade microbiana de solos tropicais propicia a mineralização de aminoácidos livres (Stevenson, 1982).

Para a fração do N-NI houve diferença entre doses de LE em ambos os solos. No LVd houve variação de 78,2 a 349,6 mg kg^{-1} de N nas doses de 100 e 365 Mg ha^{-1} de LE, respectivamente. No LVef, os valores obtidos nos tratamentos 200 e 365 Mg ha^{-1} de LE diferiram do tratamento controle, com variação 230,8 a 413,84 mg kg^{-1} de N nas doses de 0 e 365 Mg ha^{-1} de LE, respectivamente.

Tabela 6. Frações do N orgânico em Latossolo Vermelho distrófico (LVd) e em Latossolo Vermelho eutroférrico (LVef) com aplicação de LE por 20 anos.

LE (Mg ha^{-1})	$N\text{-}NH_4^+$ hidrolisável		N-Aaç		N-Aa	
	LVd	LVef	LVd	LVef	LVd	LVef
0	81,8 b	67,6 a	171,0 a	352,3 b	90,2 b	175,6 a
100	97,3 ab	67,6 a	159,2 a	373,7 ab	140,5 ab	138,6 a
200	130,5 ab	68,9 a	224,4 a	400,5 ab	206,7 a	168,1 a
365	144,1 a	100,4 a	191,5 a	435,0 a	158,9 ab	204,8 a
CV (%)	12,0	0,9	5,2	10,9	26,4	12,3
LE (Mg ha^{-1})	N-NI		N-total hidrolisável		N-IA	
	LVd	LVef	LVd	LVef	LVd	LVef
0	117,5 b	230,8 b	435,0 b	785,9 c	117,9 b	127,4 b
100	78,2 b	313,4 ab	422,4 b	893,4 bc	113,5 b	262,3 a
200	270,8 a	400,3 a	832,4 a	1037,8 ab	215,5 a	135,9 ab
365	349,6 a	413,8 a	778,8 a	1105,0 a	187,94 ab	154,9 ab
CV (%)	4,9	4,2	5,8	1,5	9,9	1,0

N-Aaç: N-aminoaçúcares; N-Aa: N-aminoácidos; N-NI: N-não identificado; N-IA: N-insolúvel em ácido. Letras minúsculas diferentes indicam diferença na coluna pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: Coeficiente de variação.

O N-total hidrolisável no LVd foi maior nos tratamentos 200 e 365 Mg ha^{-1} de LE, com valores entre 832,40 e 778,80 mg kg^{-1} de N, respectivamente (Tabela 6). Na mesma fração, mas para o LVef, as doses 200 e 365 Mg ha^{-1} de LE diferiram do tratamento controle, com aumentos de 251,93 e 319,13 mg kg^{-1} de N, respectivamente.

Os maiores teores de N-IA no LVd ocorreram nos tratamentos 200 e 365 Mg ha^{-1} de LE, com variação na concentração de N de 113,5 na dose de 100 Mg ha^{-1} de LE, a 215,5 mg kg^{-1} de N na dose de 200 Mg ha^{-1} de LE. No LVef, houve variação

entre os tratamentos, sendo os maiores teores na dose de 100 Mg ha^{-1} quando comparada ao controle, com aumento de 134,9 mg kg^{-1} de N.

Em todos os casos, os valores de N-IA foram menores do que o N total hidrolisável, com relação N-IA/N-Total hidrolisável variando no LVd de 0,24 a 0,27 e no LVef de 0,13 a 0,29. Isso indica que a reserva que contém as frações mais degradáveis predomina, independentemente das aplicações de LE. Os valores da relação N-IA/N-Total hidrolisável foram menores do que os encontrados por Bergamasco (2015) em Latossolo Vermelho distrófico (0,2 a 0,5) e por Kuhnen (2013), em amostras do Planalto Ocidental do Estado de São Paulo (0,2 a 0,8). O N-IA é considerado a fração do N orgânico presente no solo que é resistente a hidrólise ácida. De natureza não proteica, essa fração também não é inerte, e segundo Schnitzer e Hindle (1981), pode ser degradada por leve oxidação química e/ou por microrganismos do solo em formas de N mais simples, tornando-se disponível para as raízes de plantas e microrganismos, não devendo, portanto, ser ignorada.

As porcentagens de N-NI nos solos podem ser elevadas, atingindo >20% do N total (Stevenson, 1982), mas os valores no presente trabalho foram muito maiores do que foi previsto por Stevenson (1982), com variação entre 18,51 e 41,82%.

Apesar da alta estabilidade do N-NI, a mineralização de N do solo pode ser oriunda de qualquer fração do N orgânico e, portanto, ele pode ser degradado por microrganismos do solo a formas de N cada vez mais simples, até torná-las disponíveis às plantas (Sammi et al., 2003).

A quantidade de N total hidrolisável + N-IA em relação ao N total do solo variou entre 50,33% no LVd, na dose de 100 Mg ha^{-1} de LE, e 75,39% no LVef, na dose de 200 Mg ha^{-1} de LE (Figura 9). As médias, entretanto, variaram entre 63,44% e 67,71% para o LVd e LVef, respectivamente.

Valores baixos na recuperação de N total hidrolisável + N-IA em relação ao N total do solo demonstram que nos dois Latossolos estudados, o método não conseguiu oxidar 100% do N presente no solo, apesar do uso de um ácido forte (HCl 6 mol L^{-1}) em amostras mantidas em aquecimento por 12 h, conforme também observado por Schnitzer e Hindle (1980).

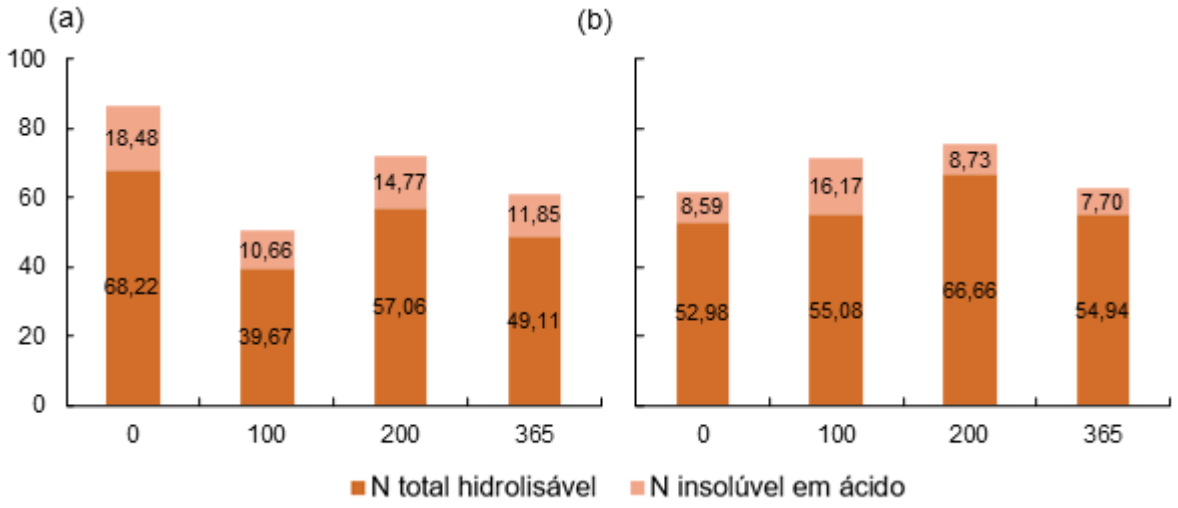

Figura 9. Porcentagem de N total hidrolisável e de N insolúvel em ácido no teor de N total do solo, em função das doses de aplicação de LE em Latossolo Vermelho distrófico (LVd) (a) e em Latossolo Vermelho eutroférrico (LVef) (b).

As frações de N orgânico do solo em relação ao N-Total hidrolisável foram distribuídas da seguinte forma: 15,68-23,03% na forma de N-NH_4^+ hidrolisável, 24,59-39,30% na forma de N-Aaç, de 20,40-33,27% como N-Aa, e de 18,51-41,82% de N-NI no LVd (Figura 10).

Para o LVef, as frações de N em relação ao N total hidrolisável foram distribuídas da seguinte forma: 6,64-9,09% na forma de N-NH_4^+ hidrolisável, 38,59-44,83% na forma de N-Aaç, de 15,52-22,34% como N-Aa, e de 29,37-38,57% de N-NI.

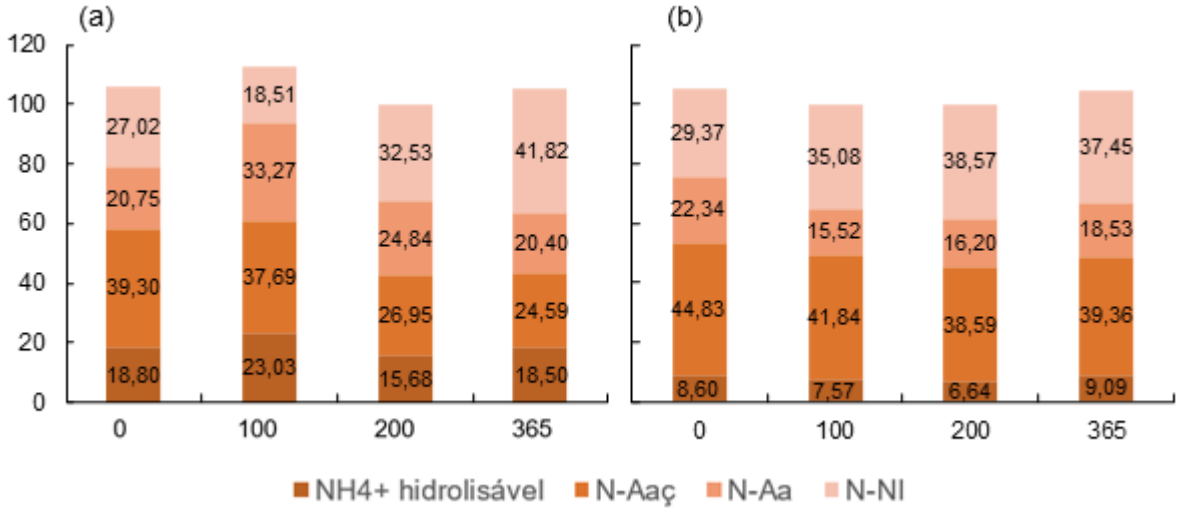

Figura 10. Porcentagem das frações de N em relação ao N total hidrolisável, em função das doses de aplicação de LE em Latossolo Vermelho distrófico (LVd) (a) e em Latossolo Vermelho eutroférrico (LVef) (b). N-Aaç: N-aminoaçúcares; N-Aa: N-aminoácidos; N-NI: N-não identificado.

Os fatores que afetam a distribuição das formas de N orgânico nos solos ainda são pouco conhecidos, com grandes variações nos padrões de distribuição de N mesmo dentro de um grupo semelhante, mas sendo constantemente atribuídas as diferentes propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos (Stevenson, 1982).

Embora o cultivo, na maior parte dos solos diminua o teor de N, as perdas não são distribuídas uniformemente entre as frações e, segundo Stevenson (1982), nem o acréscimo de resíduos orgânicos ao solo, nem o cultivo, afetam muito a distribuição das formas de N no solo, podendo todas ser biodegradáveis.

Ao comparar as porcentagens de cada fração do N-orgânico do presente estudo com os observados por Kuhnen (2013), realizado também em Latossolo Vermelho nas proximidades da localização desse trabalho, observam-se diferenças na distribuição das frações, inclusive no tratamento controle, ou seja, sem aplicação de LE. Esse fato faz acreditar que o revolvimento mecânico realizado anualmente nos solos que recebem a aplicação do resíduo tenha tido mais influência na distribuição de N no solo do que as doses de LE. Segundo Otto et al. (2013), a mineralização e os processos microbianos do solo são influenciados pelas propriedades químicas e físicas do solo, mas também pelos aspectos de manejo, incluindo o sistema e as práticas de cultivo.

4.5 Correlações

Uma forma de melhor avaliar a disponibilidade de N do solo para as plantas é correlacionar as medidas de N do solo com o N absorvido pelas plantas, demonstrando o que mais pode se tornar disponível durante o ciclo da cultura.

Com exceção do N-IA, todas as frações do N orgânico (N-NH_4^+, N-Aaç, N-Aa, N-TH, N-NI), N-DVD, N-total e N mineralizado (N-Min) do solo foram correlacionadas com o N absorvido (Nabs) pelas plantas (dados obtidos no experimento em casa de vegetação), com coeficientes de correlação variando entre 0,32* e 0,68** para N-Aaç e N-DVD respectivamente (Tabela 8). A não correlação do N-IA indica que essa fração não reflete o N absorvido pelas plantas, como já era esperado, devido à alta resistência a degradação que apresenta.

Tabela 7. Coeficientes de correlação (r) entre N absorvido (Nabs) pelas plantas e os teores e formas de N no solo.

	Nabs	DVD	N-Total	N-NH_4^+	N-NAaç	N-Aa	N-TH	N-NI	N-IA
DVD	0,68**								
N-Total	0,62**	0,78**							
N-NH_4^+	0,53**	$0,23^{NS}$	$0,14^{NS}$						
N-NAaç	0,32*	0,59**	0,60**	-0,43**					
N-Aa	0,59**	0,51**	0,54**	$0,29^{NS}$	0,41**				
N-TH	0,58**	0,73**	0,80**	$0,03^{NS}$	0,74**	0,56**			
N-NI	0,46**	0,58**	0,59**	$0,03^{NS}$	0,50**	$0,29^{NS}$	0,88**		
N-IA	$0,15^{NS}$	0,43**	$0,27^{NS}$	$0,12^{NS}$	$0,15^{NS}$	$0,15^{NS}$	$0,22^{NS}$	$0,12^{NS}$	
N-Min	0,51**	0,52**	0,44**	$-0,02^{NS}$	0,64**	0,38*	0,58**	0,46**	$0,11^{NS}$

Nabs: N absorvido pela planta; N-Aaç: N-aminoaçúcares; N-Aa: N-aminoácidos; N-TH: N-total hidrolisável; N-NI: N-não identificado; N-IA: N-insolúvel em ácido; N-Min: N-mineralizado. **: significativo a 1% de probabilidade. *: significativo a 5% de probabilidade. ^{NS}: Não significativo.

A maior correlação do N-DVD com o Nabs pela planta demonstra que, ao contrário do relatado por Bergamasco (2015), esse método é o que melhor pode representar a disponibilidade de N para as plantas, apesar da baixa correlação com o N-NH_4^+ ($0,23^{NS}$), fração considerada de baixa labilidade.

Para as demais frações de N orgânico, o N-DVD apresentou correlações significativas, sendo 0,59** (N-NAaç), 0,51** (N-Aa), 0,73** (N-TH) e 0,59** (N-NI). Com o N-Min, o N-DVD apresentou correlação de 0,44**.

Esperava-se que apenas frações mais lábeis se correlacionassem com o Nabs pelas plantas, visto que são as mais fáceis de mineralizar. Entretanto, esse comportamento não se confirmou no presente trabalho. Embora alguns autores (Mulvaney et al., 2001; Bremner, 1965; Stevenson, 1982; Khan et al., 2001; Bergamasco, 2015) tenham observado maior correlação do Nabs com o N-Aaç, descrevendo essa fração como a que melhor representa o N disponível do solo, ela foi a que apresentou menor correlação com o N absorvido pelas plantas, apesar da significância a 5%.

Ainda que os dados observados demonstrem correlação maior do N-total com o Nabs (0,62**), Wang et al. (2001) relatam que essa não é uma medida recomendada como índice único para estimar a capacidade do solo em disponibilizar N às plantas, visto que simplifica demais a ciclagem de N e as transformações deste nutriente no solo.

5 CONCLUSÕES

A aplicação de LE por 20 anos aumenta o reservatório total de N do solo e o N absorvido (Nabs) por plantas de *Urochloa brizantha* cv. Marandu.

O N incorporado ao solo pelas aplicações repetidas de LE se distribui proporcionalmente entre os reservatórios, e as frações de N-Aaç e N-IA predominam em relação às demais em latossolos adubados com LE por 20 anos.

O fracionamento químico do N orgânico dos solos, além de não ser um método prático, também não é eficiente para descrever a origem do N disponível.

O N-DVD apresenta praticidade e extrai quantidades de N semelhantes ao N absorvido, e, apesar de não se correlacionar com a fração de $N\text{-}NH_4^+$, é o que melhor se correlaciona com o N-absorvido pelas plantas, e por isso, pode ser considerado o melhor método de avaliação da disponibilidade de N.

Aplicações sucessivas de LE em uma mesma área podem gerar, em longo prazo, quantidades excessivas de nitrato no solo, causando danos ambientais. Por isso, cuidados no manejo da aplicação de LE devem ser tomados.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adame CR (2018) **Formas de nitrogênio orgânico em solos tratados com esterco bovino.** 56 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Unesp. Jaboticabal.

Barbosa JC, Maldonado Jr W. AgroEstat. 2015. **Sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos**. Jaboticabal: FCAV/UNESP.

Bartholomew WV, Clark, FE (1965) Mineralization and immobilization of nitrogen in the decomposition of plant and animal residues. **Soil nitrogen**, 10: 285-306.

Basso B, Ritchie JT (2005) Impact of compost, manure and inorganic fertilizer on nitrate leaching and yield for a 6-year maize–alfalfa rotation in Michigan. **Agriculture, ecosystems & environment**, 108:329-341.

Bergamasco MAM (2015) **Formas de N-orgânico em latossolo em função de nitrogênio e de plantas de cobertura em pré-safra do milho**. 55 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Unesp. Jaboticabal.

Boeira RC, Ligo MAV, Dynia JF (2002) Mineralização de nitrogênio em solo tropical tratado com lodos de esgoto. **Pesq. agropec. Bras**. 37:1639-1647.

Brady NC, Weil RR (2013) **Elementos da natureza e propriedades dos solos**. 3ª edição. Bookman Editora, 2013.

Brasil. Resolução CONAMA nº 498/2020. 2020. Define critérios e procedimentos para produção e aplicação de biossólido em solos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, n. 161, p. 265-273.

Brasil. Lei nº 14.026, de 15 de julho de 2020. Atualiza o marco legal do saneamento básico e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.

Bremner JM (1965) Organic forms of nitrogen. In: Black CA, Evans DD, White JL, Ensminger LE, Clarck FE. **Methods of soil analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties** 9:1238–1255.

Bruun S, Yoshida H, Nielsen MP, Jensen LS, Christensen TH, Scheutz C (2016) Estimation of long-term environmental inventory factors associated with land application of sewage sludge. **Journal of Cleaner Production**, 126:440-450.

Camargo OA, Moniz AC, Jorge JA, Valadares JMAS (2009) **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do instituto agronômico de Campinas**. Campinas: Instituto Agronômico (Boletim técnico 106).

Cantarella H, Trivelin PCO. Determinação de nitrogênio total em solo. In: Raij B. van, Andrade JC, Cantarella H, Quaggio JA (2001) **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico. p. 262-269.

Carmo CAFS, Araújo WS, Bernardi ACC, Saldanha MFC (2000) **Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na Embrapa Solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos.

Centurion JF (1998) **Caracterização e classificação dos solos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal**. Tese (Livre-Docência em Pedologia) – Unesp. Jaboticabal.

CETESB (1999) **Aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas: critérios para projeto e operação**. São Paulo, (Manual Técnico - P4230).

Cha YM, Tabatai MA (1986) Mineralization of Nitrogen in Soils Amended with Organic Wastes. **J. Environ. Qual**. 15:193-198.

Corrêa RS, White RE, Weatherley AJ (2012) Effects of sewage sludge stabilization on organic-N mineralization in two soils. **Soil Use and Management**, 28:12-18.

Dessureault-Rompré J, Burton DL, Zebarth BJ (2018) Soluble organic nitrogen in potentially mineralizable N assays: are we missing an important component?. **Canadian Journal of Soil Science**, 98:570-573.

Ding A, Zhang R, Ngo HH, He X, Ma J, Nan J, Li G (2021) Life cycle assessment of sewage sludge treatment and disposal based on nutrient and energy recovery: A review. **Science of the Total Environment**, 144451.

Dynia JF, Boeira RC, Souza MD (2006) Nitrato no perfil de um latossolo vermelho distroférrico cultivado com milho sob aplicações sequenciais de lodo de esgoto. In: Bettiol W, Camargo O. (Org). **Lodo de esgoto: impactos ambientais na agricultura**. São Paulo: Jaguariúna. p. 79-89.

Elsalam HEA, El-Sharnouby ME, Mohamed AE, Raafat BM, El-Gamal EH (2021) Effect of Sewage Sludge Compost Usage on Corn and Faba Bean Growth, Carbon and Nitrogen Forms in Plants and Soil. **Agronomy**, 11: 628.

Er F, Ogut M, Mikayilov FD, Mermut AR (2005) Important factors affecting biosolids nitrogen mineralization in soils. **Communications of Soil Science and Plant Analisys**, 35:2.327–2.343.

Feller C, Beare MH (1997) Physical control of soil organic matter dynamics in the tropics. **Geoderma**, 79:69-116.

Gruber N, Galloway JN (2008) An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. **Nature**, 451:293-296.

Hall JE (1983) Manurial value of different sewage sludge types. In: **Sludge Utilisation to Farmland, Water Research Centre Regional Seminar Report**. Water Research Centre Marlow, Bucks, UK.

Hassink J (1994) Effects of soil texture and grassland management on soil organic C and N and rates of C and N minberalization. Soil Biology and **Biochemistry**, 26:1221-1231.

Hernández T, Moral R, Perez-Espinosa A, Moreno-Caselles J, Perez-Murcia MD, García C (2002) Nitrogen mineralization potential in calcareous soils amended with sewage sludge. **Bioresour. Technol**, 83: 213–219.

Hui C, Sun P, Guo X, Jiang H, Zhao Y, Xu L (2018) Shifts in microbial community structure and soil nitrogen mineralization following short-term soil amendment with the ammonifier Bacillus amyloliquefaciens DT. **International Biodeterioration & Biodegradation**, *132*:40-48.

IBGE, Diretoria de Pesquisas. Coordenação de População e Indicadores Sociais, Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2008. **Atlas nacional do Brasil**, v. 3, 2017.

Khan SA, Mulvaney RL, Hoeft RG (2001) A simple soil test for detecting sites that are nonresponsive to nitrogen fertilization. **Soil Science Society America Journal**, 65:1751-1760.

Kuhnen F (2013) **Mineralização de Nitrogênio de solos e de resíduo orgânico em laboratório e em campo**. 64 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Unesp. Jaboticabal.

Leinweber P, Schulten HR (1998) Nonhydrolyzable organic nitrogen in soil size separates from long-term agricultural experiments. **Soil Science Society of America Journal**, 62: 383-393.

Lipson DA, Monson RK (1998) Plant-microbe competition for soil amino acids in the alpine tundra: effects of freeze-thaw and dry-rewet events. **Oecologia**, 113:406–414.

Lipson D, Näsholm T (2001) The unexpected versatility of plants: organic nitrogen use and availability in terrestrial ecosystems. **Oecologia**, 128:305-316.

Majumder SP, Chaitanya AK, Datta A, Padhan D, Badole S, Mandal B (2018) Dynamics of carbon and nitrogen in agricultural soils: role of organic and inorganic sources. In: **Soil Management and Climate Change,** p. 151-169. Academic Press.

Matus FJ, Maire GCR (2000) Relación entre la materia orgánica del suelo, textura del suelo y tasas de mineralización de carbono y nitrógeno. **Agricultura Técnica**, 60:112-126.

Moretti SML, Bertoncini EI, Abreu Junior CH (2013). Application of nitrogen mineralization method with leaching to soil amended with sewage sludge and organic compost. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 37:622-631.

Mulvaney RL, Khan AS (2001) Diffusion methods to determine different forms of nitrogen in soil hydrolysates. **Soil Science Society of America Journal**, 65:1284-1292.

Mulvaney RL, Otto R, Griesheim KL, Su K, Trivelin PCO (2016) Leaching methods can underestimate mineralization potential of soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 47: 1701-1708.

Otto R, Mulvaney RL, Khan SA, Trivelin PCO (2013) Quantifying soil nitrogen mineralization to improve fertilizer nitrogen management of sugarcane. **Biology and Fertility of Soils**, 49:893-904.

Peltre C, Gregorich EG, Bruun S, Jensen LS, Magid J (2017) Repeated application of organic waste affects soil organic matter composition: evidence from thermal analysis, FTIR-PAS, amino sugars and lignin biomarkers. **Soil Biology and Biochemistry**, 104:117-127.

Raij B. van, Cantarela H, Quaggio JA, Furlani AMC (1997) **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agronômico (Boletim Técnico 100).

Raij B. van, Andrade JC, Cantarella H, Quaggio JA (2001) **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico.

Rigby H, Clarke BO, Pritchard DL, Meehan B, Beshah F, Smith SR, Porter NA (2016) A critical review of nitrogen mineralization in biosolids-amended soil, the associated fertilizer value for crop production and potential for emissions to the environment. **Science of the Total Environment**, 541:1310-1338.

Rigby H, Smith SR (2013) Nitrogen availability and indirect measurements of greenhouse gas emissions from aerobic and anaerobic biowaste digestates applied to agricultural soils. **Waste management**, 33:2641-2652.

Roberts TL, Norman RJ, Slaton NA, Wilson Junior CE, Ross WJ, Bishong JT (2009) Direct steam distillation as an alternative to the Illinois Soil Nitrogen Test. **Soil Science Society of American Journal**, 73:1268-1275.

Roberts TL, Norman RJ, Fulford AM, Slaton NA (2013) Field validation of N-STaR for rice produced on silt loam soils in Arkansas. **Soil Sci. Soc. Am. J**. 77:539–545.

Rocha MAS (2020) **Aplicação anual de lodo de esgoto por vinte e três anos em dois Latossolos em região tropical e o comportamento da matéria orgânica, da capacidade de troca catiônica e do fósforo**. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de ciências agrárias e veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Ross DJ, Speir TW, Tate KR, Orchard VA (1985) Effects of sieving on estimations of microbial biomass, and carbon and nitrogen mineralization, in soil under pasture. **Australian Journal of Soil Research**, 23: 319-324.

Rovira J, Mari M, Nada M, Schuhmacher M, Domingo JL (2011) Use of sewage sludge as secondary fuel in a cement plant: human health risks. **Environment International**, 37:105-111.

Ryan JA, Keeney DR, Walsh LM (1973) Nitrogen transformations and availability of an anaerobically digested sewage sludge in soil. **J. Environ. Qual**. 2: 489–492.

Sammi Reddy K, Singh M, Tripathi AK, Singh M, Saha MN (2003) Changes in amount of organic and inorganic fractions of nitrogen in an Eutrochrept soil after long-term cropping with different fertilizer and organic manure inputs. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, 166:232-238.

Santos HG, Jacomine PKT, Anjos LHC, Oliveira VA, Lumbreras JF, Coelho MR, Cunha TJF (2018). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa, 2018.

Schnitzer M, Hindle DA (1980) Effect of peracetic acid oxidation on N-containing components of humic materials. **Canadian Journal of Soil Science**, 60:541-548.

Schnitzer M, Hindle DA (1981) Effects of different methods of acid hydrolysis on the nitrogen distribution in two soils. **Plant and Soil**, 60:237-243.

Schulten HR, Schnitzer M (1997) The chemistry of soil organic nitrogen: a review. **Biology and Fertility of Soils**, 26:1-15.

Singh RP, Agrawal M (2008) Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. **Waste management**, 28:347-358.

Smith JL, Schnabel RR, McNeal BL, Campbell GS (1980) Potential Errors in the First-order Model for Estimating Soil Nitrogen Mineralization Potentials. **Soil Science Society of America Journal**, 44:996-1000.

Speir TW (2008) Relationship between biochemical activity and metal concentration in soil amended with sewage sludge. **Developments in Soil Science**, 32:261-279.

Stanford G, Smith SJ (1972) Nitrogen mineralization potentials of soils. **Soil Science Society of America Journal**, 36:465-472.

Stevenson FJ (1982) 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, 625-641.

Stevenson FJ (1996) Nitrogen-Organic forms. In: Sparks DL et al. (Eds.) **Methods of soil analysis: Chemical Methods**. Part 3. Madison, USA, Soil Science Society of America, 1185-1200.

Teoh SK, Li LY (2020) Feasibility of alternative sewage sludge treatment methods from a lifecycle assessment (LCA) perspective. **Journal of Cleaner Production**, 247:119495.

Tusneem ME, Patrick Jr WH (1971) Nitrogen transformations in waterlogged soil. **LSU Agricultural Experiment Station Reports**, 20.

Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis, BA (1991) Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. **Journal of Dairy Science**, 74:3583–3597.

Wang JS, Stewart JR, Khan SA, Dawson JO (2010) Elevated amino sugar nitrogen concentrations in soils: a potential method for assessing N fertility enhancement by actinorhizal plants. **Symbiosis**, 50:71-76.

Wang WJ, Smith CJ, Chen D (2003) Towards a standardized procedure for determining the potentially mineralizable nitrogen of soil. **Biology and Fertility of Soils**, 37:362-374.

Wu TY, MA BL, Liang BC (2008) Quantification of seasonal soil nitrogen mineralization for corn production in eastern Canada. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, 81:279-290.

Yada MM, Melo WJ, Mingotte FLC, Melo VP, Melo GMP (2015) Chemical and 552 Biochemical Properties of Oxisols after Sewage Sludge Application for 16 553 Years. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 39: 1303-1310.

Yagi R, Ferreira ME, Cruz MCPD, Barbosa JC (2009) Mineralização potencial e líquida de nitrogênio em solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 33: 385-394.

Yoshida H, ten Hoeve M, Christensen TH, Bruun S, Jensen LS, Scheutz C (2018) Life cycle assessment of sewage sludge management options including long-term impacts after land application. **Journal of Cleaner Production**, 174:538-547.

Zech W, Senesi N, Guggenberger G. Kaiser K, Lehmann J, Miano TM, Miltner A, Schroth G (1997) Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. **Geoderma**, 79:117-161.

Zhang X, Ward BB, Sigman DM (2020) Global nitrogen cycle: critical enzymes, organisms, and processes for nitrogen budgets and dynamics. **Chemical Reviews**, 120:5308-5351.