

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**MÉTODOS QUÍMICOS PARA PREVISÃO DA
DISPONIBILIDADE DE NITROGÊNIO PARA MILHO EM
SUCESSÃO A PLANTAS DE COBERTURA**

Kamila Maria Elias Figueiredo

Engenheira Agrônoma

Jaboticabal-SP

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**MÉTODOS QUÍMICOS PARA PREVISÃO DA
DISPONIBILIDADE DE NITROGÊNIO PARA MILHO EM
SUCESSÃO A PLANTAS DE COBERTURA**

Kamila Maria Elias Figueiredo

Orientadora: Prof. Dra. Mara Cristina Pessôa da Cruz

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

Jaboticabal-SP

2021

F475m

Figueiredo, Kamila Maria Elias

Métodos químicos para previsão da disponibilidade de nitrogênio para milho em sucessão a plantas de cobertura / Kamila Maria Elias Figueiredo. -- Jaboticabal, 2021
41 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientadora: Mara Cristina Pessoa da Cruz

1. Análise de solo. 2. Nitrogênio mineralizável. 3. Plantas de cobertura. 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.

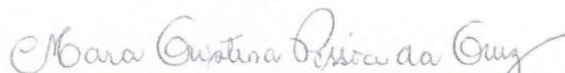
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: MÉTODOS QUÍMICOS PARA PREVISÃO DA DISPONIBILIDADE DE NITROGÊNIO PARA MILHO EM SUCESSÃO A PLANTAS DE COBERTURA

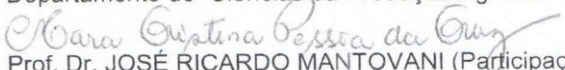
AUTORA: KAMILA MARIA ELIAS FIGUEIREDO

ORIENTADORA: MARA CRISTINA PESSOA DA CRUZ

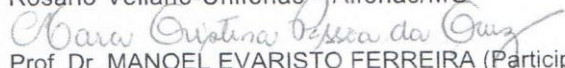
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (CIÊNCIA DO SOLO), pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. MARA CRISTINA PESSOA DA CRUZ (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV / UNESP - Jaboticabal



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



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

Jaboticabal, 31^o de março de 2021

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Kamila Maria Elias Figueiredo – nascida em 10 de maio de 1989, na cidade de Hidrolina – GO, concluiu o curso de graduação em agronomia no ano de 2016 pelo Instituto Federal do Triângulo Mineiro (IFTM) campus de Uberlândia. Durante a graduação participou de projetos de pesquisa voltados para Ciência do Solo. Foi bolsista PIBIT do CNPq e FAPEMIG e participou de projetos de extensão rural com agricultores familiares. No ano de 2017 atuou na avaliação de áreas de proteção permanente e estudos ambientais de flora no setor sucroenergético no noroeste paulista. Em 2018 iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-graduação em Agronomia (Ciência do Solo), na Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal – SP. Durante o mestrado foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, no período de agosto de 2018 a agosto de 2020).

“Não acredite em derrotas. Lembre-se de que, pela bênção de Deus, você está agora em seu melhor tempo. O tempo de Hoje, no qual você pode sorrir e recomeçar.”

Francisco Cândido Xavier

DEDICO

A Deus, pois sem ele, nada seria possível.
Ao meu anjinho Mauro.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por conceder-me força para seguir em frente quando os momentos difíceis pareciam ser maiores que minha capacidade em prosseguir.

Ao meu filho Mauro Figueiredo Borges, que é a minha fonte inesgotável de amor e luz.

À minha orientadora Mara Cristina Pessôa da Cruz, que mais que uma orientadora foi uma mãe quando mais precisei! Muito obrigada pelas palavras sempre sábias e afetuosas e por todo amparo que recebi em Jaboticabal.

Ao Prof. Itamar Andrioli, idealizador e responsável pelo experimento de campo onde foram coletadas as amostras de solo avaliadas.

À Eng. Agrônoma Aline Carla Trombeta Bettiol, por ceder as amostras de solos para as análises e por sempre estar disposta a ajudar.

Aos Profs. Manoel Evaristo Ferreira e José Ricardo Mantovani, pelas contribuições no exame geral de qualificação.

Aos meus pais, Sandra e Mauro, por tudo que fazem por mim. Espero um dia poder retribuir!

À minha querida irmã Ana Paula, obrigada pelo apoio e por tudo que faz por mim e pelo Mauro. Te amamos infinitamente!

Aos companheiros e amigos de laboratório, Adriano, Natã, Amanda, Denise, Lucas, Roberta, Nayane, Maira, Gilberto e Samira, obrigada por tudo.

Aos amigos que fiz em Jaboticabal e levarei para sempre no meu coração, Senhor Adelmo, pela amizade e amparo que jamais vou esquecer, e Tamires, minha companheira de apartamento. Aos amigos que fiz na UNESP, Priscila, Adriano, Leonardo, Thayane e Poliana, vocês são muito especiais.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP/FCAV), pela realização do sonho de estudar aqui.

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

SUMÁRIO

RESUMO	ii
ABSTRACT.....	iii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Dinâmica do N no solo.....	3
2.2 Adubação mineral e disponibilidade do nitrogênio no solo em função de plantas de cobertura na cultura do milho.....	7
2.3 Métodos de extração de nitrogênio do solo.....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1 Localização, solo, clima e histórico da área do experimento.....	14
3.2 Dados Climáticos.....	14
3.3 Delineamento experimental e tratamentos.....	15
3.4 Coleta das amostras de solo.....	16
3.5 Extração do N orgânico potencialmente mineralizável nas amostras de solo.....	16
3.6 Determinação do N acumulado pelas plantas de milho.....	18
3.7 Análise dos resultados.....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
4.1 Métodos de extração do N orgânico potencialmente mineralizável com soluções salinas.....	18
4.2 Métodos de extração do N orgânico potencialmente mineralizável com soluções alcalinas.....	26
5. CONCLUSÃO.....	33
6. Referências Bibliográficas.....	33

MÉTODOS QUÍMICOS PARA PREVISÃO DA DISPONIBILIDADE DE NITROGÊNIO PARA MILHO EM SUCESSÃO A PLANTAS DE COBERTURA

RESUMO – A medida do potencial de mineralização do nitrogênio (N) orgânico do solo é um dos critérios fundamentais para tornar as recomendações de adubação mais precisas. Deste modo, os objetivos com esse estudo foram: (i) avaliar a influência de plantas de cobertura cultivadas em pré-safra de milho, combinadas com doses de N em cobertura no milho, no N orgânico mineralizável do solo determinado por extratores salinos e alcalinos; (ii) estimar a eficiência dos extratores como ferramentas de avaliação da disponibilidade de nitrogênio. As amostras de solo foram coletadas em experimento instalado em Latossolo Vermelho distrófico típico de textura argilosa, com cultivo de plantas de cobertura em pré-safra de milho. As espécies cultivadas são feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), mucuna-cinza (*Mucuna cinerea*), crotalária (*Crotalaria juncea*), lablab (*Dolichos lablab*) e milheto (*Pennisetum americanum*), além de um tratamento controle com vegetação espontânea. O experimento está delineado em blocos ao acaso e parcelas subdivididas, sendo as espécies de planta de cobertura os tratamentos principais e as doses de N em cobertura no milho (0, 60, 120 e 180 kg ha⁻¹), os secundários. Os tratamentos começaram a ser aplicados na safra 2000/2001 e a coleta das amostras foi feita após a colheita do milho na safra 2015/2016, na profundidade de 0-10 cm, nos tratamentos feijão-de-porco, mucuna, milheto e vegetação espontânea, combinados com as quatro doses de N. Nestas amostras foi feita a extração do N orgânico mineralizável empregando extratores salinos com extração a quente [CaCl₂ e Ca(H₂PO₄)₂ 0,01 mol L⁻¹ e KCl 2 mol L⁻¹] e hidrólise alcalina (Illinois Soil Nitrogen Test-ISNT e destilação a vapor direta - DVD). Os dados obtidos com os métodos foram correlacionados entre si e com o N absorvido pelo milho na safra 2016/2017, definido como referencial de disponibilidade de N avaliado *in situ*. O N orgânico mineralizável extraído com soluções salinas diluídas, na maior parte das combinações planta de cobertura-milho, aumentou com o aumento das doses de N até cerca de 90 kg ha⁻¹, e diminuiu em seguida, até a dose máxima de 180 kg ha⁻¹. O comportamento foi inverso com o uso de solução salina concentrada, indicando que a força da solução leva a extração de N de reservatórios diferentes. O cultivo de espécies leguminosas em rotação com milho levou a maiores teores de N orgânico mineralizável, com maior sensibilidade dos extratores ISNT e DVD para este efeito. Os métodos de extração avaliados não foram eficientes em predizer o potencial de fornecimento de N do solo para o milho cultivado em rotação com gramíneas e leguminosas, uma vez que não ocorreu correlação significativa entre N extraído do solo e N acumulado na parte aérea do milho.

PALAVRAS-CHAVE: análise de solo, métodos químicos, nitrogênio mineralizável, milho.

CHEMICAL METHODS TO ESTIMATE THE NITROGEN AVAILABILITY FOR MAIZE IN SUCCESSION TO COVER CROPS

ABSTRACT – The potentially mineralizable organic nitrogen (N) in the soil is an important tool for making N recommendations more accurate. Thus, the objectives with this study were: (i) to evaluate the influence of cover crops grown in pre-sowing maize, combined with sidedress N fertilization in maize, in the mineralizable organic N of the soil determined by saline and alkaline extractors; (ii) estimate the efficiency of extractors as tools for assessing nitrogen availability. The samples were collected in an experimental area installed in a Haplustox with a clayey texture, with cover crops grown in pre-sowing corn. The cultivated species are jack bean (*Canavalia ensiformis*), gray velvet bean (*Mucuna cinerea*), sunn hemp (*Crotalaria juncea*), lablab (*Dolichos lablab*) and millet (*Pennisetum americanum*), in addition to a control treatment with spontaneous vegetation. The experiment is in randomized blocks in split-plots, with species being the main treatments and doses of N in maize sidedress (0, 60, 120 and 180 kg ha⁻¹), the secondary ones. The treatments started to be applied in the 2000/2001 and the soil sampling was done after the harvest of the corn in the 2015/2016 harvest, at a depth of 0-10 cm, in all treatments. In these samples, the extraction of mineralizable organic N was performed using saline extractors with heating [CaCl₂ and Ca(H₂PO₄)₂ 0.01 mol L⁻¹ and KCl 2 mol L⁻¹] and alkaline hydrolysis (Illinois Soil Nitrogen Test-ISNT and direct steam distillation - DSD). The data obtained with the methods were correlated with each other and with the N uptake by corn, defined as a reference for the N availability evaluated in situ. Mineralizable organic N extracted with diluted saline solutions, in most cover crop-corn combinations, increased with increasing N doses up to about 90 kg ha⁻¹, and then decreased until the maximum dose of 180 kg ha⁻¹. The behavior was reversed with the use of concentrated saline solution, indicating that the strength of the solution leads to the extraction of N from different reservoirs. The cultivation of leguminous species in rotation with corn led to higher levels of mineralizable organic N, with greater sensitivity of ISNT and DSD extractors for this purpose. The extraction methods evaluated were not efficient in predicting the potential of N supply from the soil for maize grown in rotation with grasses and legumes, since there was no significant correlation between N extracted from the soil and N accumulated in the shoot of the maize.

Keywords: soil analysis, chemical methods, mineralizable nitrogen, corn.

1. INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N) é o nutriente de plantas que, de modo geral, apresenta os maiores efeitos no aumento de produtividade. No entanto, a complexidade de avaliar sua disponibilidade no solo, devido às múltiplas reações a que ele está sujeito, mediadas por microrganismos e afetadas por fatores climáticos de difícil previsão, faz com que a adubação nitrogenada, entre todos os nutrientes, seja a mais difícil e a que mais aumenta os custos de produção.

O N aplicado via fertilizante apresenta baixa eficiência em função das perdas, as quais podem ocorrer por lixiviação, erosão, volatilização de amônia e desnitrificação, e sua eficiência de utilização pela planta é regulada por fatores edafoclimáticos e práticas de manejo. Segundo Lara Cabezas et al. (2000), avalia-se um déficit na produtividade de grãos de milho em função da volatilização da amônia da ordem de 10 kg ha^{-1} para cada 1% do N volatilizado. Embora o solo não consiga satisfazer a demanda total de N, uma grande parte do N absorvido pela cultura é fornecido pelo solo (Franco et al., 2008). Assim, a incerteza sobre as reservas de N existentes no solo que podem ser disponibilizadas durante o ciclo de crescimento das culturas torna as recomendações de adubação imprecisas (Lobell, 2007).

Há várias décadas somam-se esforços de pesquisa na busca de um índice de disponibilidade de N, e existem várias possibilidades de métodos em teste, mas não há consenso sobre o que seria mais indicado. A medida do N orgânico potencialmente mineralizável, tanto por métodos biológicos quanto por métodos químicos, é a alternativa mais estudada.

Alguns métodos químicos são razoavelmente simples e se apoiam na hidrólise de compostos orgânicos empregando soluções salinas ou alcalinas mais aquecimento das amostras. A solução de KCl 2 mol L^{-1} é a mais estudada entre as soluções salinas, mas os métodos de hidrólise alcalina apresentam base teórica mais sólida, porque foram derivados dos esquemas de fracionamento de N do solo, e são conhecidos por Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT) e método de destilação a vapor direta (DVD).

Há muitos relatos de eficiência de métodos químicos na avaliação do N disponível, a maior parte derivada de estudos em condições controladas. No entanto, quando se aplicam estes métodos a condições de campo, nem sempre a eficiência é comprovada. Ainda, um método químico classificado como eficiente na previsão da disponibilidade de N para uma determinada combinação de solo, condição climática, manejo e cultura, pode se mostrar completamente ineficiente em outras combinações e, quanto mais complexo o sistema de manejo, mais difícil fica avaliar a disponibilidade de N.

Sistemas de manejo em que se empregam plantas de cobertura na entressafra ganham complexidade porque: (i) há entrada de N na forma orgânica se a espécie for leguminosa, e há imobilização e transporte de N de camadas mais profundas, com deposição em superfície, se for gramínea; (ii) a qualidade do resíduo vegetal, especialmente sua relação carbono/nitrogênio (C/N), influencia na taxa de mineralização de N e no acúmulo e na qualidade da matéria orgânica do solo; (iii) pode haver entrada de N via fertilizantes industriais para as culturas principais não leguminosas e a adubação nitrogenada pode interferir na disponibilização de N do solo. Estes sistemas têm sido cada vez mais adotados no Brasil, e ter um referencial de disponibilidade de N calibrado para estes ambientes pode aumentar muito a eficiência da adubação nitrogenada. Assim, avaliou-se a eficiência de métodos químicos em estimar o potencial de fornecimento de N pelo solo para a cultura do milho em função de plantas de cobertura e doses de N, considerando as seguintes hipóteses: (i) o efeito das plantas de cobertura na dinâmica de fornecimento de N do solo para o milho varia em função da espécie cultivada; (ii) as quantidades de N potencialmente mineralizável extraídas por métodos químicos refletem as alterações no solo causadas pelo cultivo prolongado de plantas de cobertura em pré-safra de milho; (iii) os métodos de hidrólise alcalina são mais eficientes em prever a disponibilidade de N que as soluções salinas.

Os objetivos com esse estudo foram: (i) avaliar a influência de plantas de cobertura cultivadas em pré-safra de milho, combinadas com doses de N em cobertura no milho, no N orgânico mineralizável do solo determinado por extratores salinos e alcalinos; (ii) estimar a eficiência dos extratores como ferramentas de avaliação da disponibilidade de nitrogênio.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Dinâmica do N no solo

O manejo do N é um fator que limita a produção agrícola devido a sua dinâmica complexa no sistema solo/planta, que envolve processos de entrada e saída e várias transformações, resultando na coexistência de diferentes formas do elemento, em vários estados de oxidação (Bredemeier e Mundstock, 2000; Khan et al., 2001; Nannipieri e Eldor, 2009). Esta dinâmica, influenciada principalmente pela temperatura e umidade, inclui processos como mineralização, imobilização, nitrificação, lixiviação, volatilização da amônia e desnitrificação, os quais afetam a disponibilidade de N às plantas (Khan et al., 2001; Rambo et al., 2004).

O N presente na atmosfera, na forma de gás (N_2), é um importante reservatório deste elemento, podendo ser em parte transferido para o solo por meio de descargas elétricas e da fixação do N por microrganismos do solo (Raij, 2017). No entanto, esta abundância de N_2 na atmosfera não assegura necessariamente o adequado suprimento deste nutriente às plantas, uma vez que as formas assimiláveis de N são o amônio (NH_4^+) e o nitrato (NO_3^-) (Prado et al., 2008; Raij, 2017).

A maior parcela do N total presente nos solos é composta pelas formas orgânicas, correspondendo a cerca de 95% do total, como parte da matéria orgânica do solo (MOS), enquanto que uma pequena porção se encontra nas formas inorgânicas de NH_4^+ , NO_3^- e nitrito (NO_2^-), que são originadas tanto da MOS como dos fertilizantes minerais e orgânicos aplicados ao solo (Fitts et al., 1953; Moro et al., 2013).

A MOS é um material altamente heterogêneo. Desse modo, o N de compostos orgânicos pode ser encontrado em formas relativamente lábeis, de ciclagem rápida, ou de moléculas humificadas e recalcitrantes de difícil mineralização (Cantarella, 2007). Apesar de não estar prontamente disponível, o N-orgânico componente da MOS é capaz de suprir uma grande parte da demanda das plantas por este nutriente ao longo do ciclo (Dourado-Neto et al., 2010; Raij, 2017).

A disponibilização do N da MOS é controlada pela ação microbiana nos processos de mineralização e imobilização (Vargas e Scholles, 1998; Myrold e Bottomley, 2008). A mineralização é o processo responsável por transformar o N da forma orgânica para inorgânica (NH_4^+ e NO_3^-), ao passo que a imobilização é o processo inverso, ou seja, trata-se da transformação do N inorgânico em N orgânico (Fitts et al., 1953). Tais processos são caracterizados por serem antagônicos e ocorrerem simultaneamente durante a decomposição dos resíduos orgânicos (Nannipieri e Eldor, 2009). São, ainda, processos complexos e dependentes de vários fatores, como a composição do resíduo orgânico, principalmente no que se refere à relação C/N, ao manejo do solo, à relação existente entre o material orgânico e o solo e às condições edafoclimáticas, resultando em diferentes relações de imobilização-mineralização (St. Luce et al., 2011; Carneiro et al., 2013).

Dentre os fatores citados que influenciam a dinâmica do processo de mineralização e imobilização, destaca-se a relação C/N dos resíduos vegetais. Segundo Cantarella (2007), a relação C/N nada mais é que uma aproximação da relação energia/nitrogênio (E/N), responsável por direcionar as reações. De forma geral, resíduos vegetais com alto teor de C orgânico lábil e pouco N, como observado nos resíduos de espécies de gramíneas, por exemplo, apresentam alta relação C/N, o que implica na predominância da imobilização, uma vez que os microrganismos recorrem ao N inorgânico e também ao N orgânico presente nos solos para sustentar suas comunidades (Vargas et al., 2005). Como consequência desse processo, tem-se competição entre os microrganismos e as plantas pelo N inorgânico disponível do solo, a qual resulta na ocorrência de sintomas de deficiência de N nas plantas devido a maior quantidade e melhor distribuição dos microrganismos nos solos (Cantarella, 2007). No entanto, é necessário ressaltar que o N imobilizado pela biomassa microbiana constitui-se em importante fonte de N potencialmente mineralizável, isso porque, ao morrerem, os microrganismos são mineralizados, de forma até mais rápidas que outras frações da matéria orgânica do solo (Vargas et al., 2005).

Conforme o resíduo vegetal vai sendo consumido pelos microrganismos, sua relação C/N tende a diminuir. De forma geral, os processos de mineralização e imobilização se equilibram quando a relação C/N dos resíduos atinge valores de 20 a 30, e assim os microrganismos não precisam mais competir com as

plantas pelo N inorgânico (Acosta et al., 2014). Com a continuidade do consumo do substrato, a relação C/N tende a diminuir ainda mais, o que acarreta no aumento da disponibilidade de N inorgânico nos solos decorrente do predomínio do processo de mineralização (Cantarella, 2007).

O N amoniacal resultante do processo de mineralização é a primeira forma de N-mineral liberada no solo, e sob condições aeróbicas, é rapidamente oxidado a NO_2^- e, posteriormente, a NO_3^- , no processo denominado nitrificação (Nascente et al., 2012; Ward, 2013).

Dentre as diversas consequências da nitrificação à produção agrícola, pode-se destacar a sua contribuição para a acidificação dos solos, a qual é intensificada com a aplicação de fertilizantes amoniacais (Moro et al., 2013; Bergamasco et al., 2019). A acidificação ocorre devido a geração de íons H^+ na conversão de N-NH_4^+ a N-NO_2^- , e pela lixiviação do ânion NO_3^- devido a sua baixa afinidade com o complexo coloidal do solo, o qual arrasta cátions como cálcio, magnésio e potássio para manter a eletroneutralidade. Assim, as bases lixiviadas são substituídas posteriormente por H^+ e Al^+ trocável, passando a ocupar os sítios de troca no complexo coloidal (Ward, 2013).

O nitrato é também o substrato utilizado em outro processo denominado de desnitrificação, processo biológico, que ocorre sob condições anaeróbicas e presença de C, e que apesar de resultar na perda do N do solo, é essencial para a sua dinâmica no sistema solo/atmosfera por promover o retorno à atmosfera do N na forma de N_2 (Parton et al., 1996; Prado, 2008; Nannipieri e Eldor, 2009).

O processo de volatilização de N também ocorre na forma de amônia (NH_3), a partir de substratos orgânicos ou de NH_4^+ . A perda depende da concentração de NH_3 na solução e da resistência que esta forma de N apresenta em relação ao transporte, o que varia em função das condições de umidade, de manejo do solo, da aplicação dos fertilizantes e, principalmente, do valor do pH dos solos (Sommer et al., 2004). Ao considerar a influência do pH dos solos no equilíbrio entre o íon NH_4^+ e a forma gasosa de NH_3 , o íon NH_4^+ predomina em solos ácidos, enquanto a NH_3 é gerada em solos com o $\text{pH} > 7$, de forma que a aplicação de N amoniacal nestes solos implicará na volatilização de NH_3 (Cantarella, 2007). No entanto, aplicando N-amídico também há perda por volatilização de NH_3 . Neste caso, após ser aplicada ao solo, a ureia (N-amídico) passa por hidrólise enzimática, que resulta na formação do N amoniacal

(Sommer et al., 2004). Como consequência desta hidrólise, há aumento no valor de pH em torno dos grânulos do adubo e, assim, a forma amoniacal é transformada em NH_3 mesmo em solos ácidos, e o N poderá ser perdido por volatilização (Lara Cabezas et al., 1997).

Os processos de lixiviação, desnitrificação e volatilização de NH_3 resultam na perda do N do solo e reduzem a eficiência de utilização deste nutriente pelas plantas (Nascente et al., 2011), o que dificulta o manejo da adubação nitrogenada. Segundo Franco et al. (2008), o N-fertilizante aplicado tem menos de 40% de aproveitamento pela cultura devido ao alto potencial de perdas, e estas causam grande perturbação nos ecossistemas através dos processos de eutrofização das águas e emissão de gases de efeito estufa. Além disso, cerca de 1,8% do consumo global de energia fóssil é utilizada na produção de fertilizantes nitrogenados (Silva et al., 2006).

O uso de leguminosas de cobertura tem grande relevância na redução do uso de fertilizantes nitrogenados, devido à fixação do N atmosférico (Silva et al., 2006). No caso das gramíneas não fixadoras de N o benefício ocorre pela absorção de N em profundidade, imobilização e transporte do N para a parte aérea da planta, que volta a superfície na forma de N orgânico quando ocorre a dessecação ou roçada. Em ambos os casos haverá liberação do N imobilizado na biomassa para a cultura subsequente, o que auxilia na racionalização do uso de N-fertilizante na agricultura, bem como com o aumento da eficiência de utilização pelas plantas. De modo geral, as plantas usadas como adubos verdes ou como culturas de cobertura desempenham papel fundamental na ciclagem de nutrientes, tanto daqueles adicionados por meio dos fertilizantes industriais e não aproveitados pelas culturas comerciais, quanto daqueles provenientes da mineralização da MOS (Torres et al., 2008). Sendo assim, o uso associado de adubos industriais e plantas de cobertura é uma prática importante de manejo, por meio da qual se procura preservar os agroecossistemas, além de aumentar a produtividade agrícola.

2.2 Adubação mineral e disponibilidade do nitrogênio no solo em função de plantas de cobertura na cultura do milho

O N é, entre os nutrientes, o absorvido em maiores quantidades pela cultura do milho, que é classificada como altamente responsiva a adubação nitrogenada (Ohland et al., 2005; Caires et al., 2016). No Brasil, as recomendações de N para o milho variam principalmente em função da região de cultivo, do histórico da área e do teor de MOS. Contudo, o ajuste da adubação nitrogenada é difícil por causa da dinâmica complexa de transformações do N nos solos tropicais, e porque a eficiência da adubação com esse nutriente é afetada pelos processos que culminam na sua perda do sistema solo/planta (Ceretta et al., 2002).

A extração de N pelas plantas de milho pode alcançar quantidades maiores do que 200 kg ha⁻¹ (Coelho, 2006), o que justifica o fornecimento de fontes complementares, uma vez que essa quantidade não consegue ser suprida apenas pelo solo (Leal et al., 2013). Assim, ao considerar a alta demanda de N pelas plantas de milho, associada a baixa disponibilidade desse nutriente na maior parte dos solos do Brasil, torna-se necessário fornecê-lo na forma de fertilizante industrial ou em formas alternativas, como por exemplo a partir do uso de adubos verdes ou culturas de cobertura (Santos et al., 2010). De modo geral, as plantas de adubos verdes ou de culturas de cobertura desempenham papel fundamental na ciclagem de nutrientes, tanto daqueles adicionados por meio dos fertilizantes industriais e não aproveitados pelas culturas comerciais, quanto daqueles provenientes da mineralização da MOS (Torres et al., 2008), podendo ser uma estratégia de manejo que garante o suprimento de boa parcela do N necessário às plantas de milho.

As plantas de cobertura exercem grande influência na disponibilidade de N dos solos, alterando diretamente a dinâmica do N no sistema solo/atmosfera e, conseqüentemente, nos fluxos de entrada e saída do N deste sistema. Trata-se de uma importante estratégia de manejo que, além de fornecer proteção ao solo em função da deposição dos resíduos, também contribui para reciclagem de nutrientes e melhoria nas condições químicas, físicas e biológicas dos solos (Bertin et al., 2005; Santos et al., 2010).

No entanto, é necessário ressaltar que a liberação de N dos resíduos vegetais é fortemente afetada pela quantidade e qualidade dos resíduos que são adicionados ao solo e pela atividade microbiana (Assis et al., 2003; Acosta et al., 2014). A qualidade dos resíduos vegetais, no que diz respeito a sua relação C/N, tem função importante na decomposição e imobilização do N pelos microrganismos do solo, ou seja, a relação C/N é responsável pela predominância da mineralização sobre a imobilização ou vice-versa (Acosta et al., 2014). Além da relação C/N, cada espécie de planta de cobertura (gramínea ou leguminosa), apresenta comportamento distinto em função da sua composição bioquímica e concentração de nutrientes e, por isso, a liberação de nutrientes, particularmente de N, ocorrerá em diferentes quantidades e intervalos de tempo, o que afeta a nutrição da cultura em sucessão.

A capacidade de fixar N das espécies leguminosas, aliada a uma relação C/N em torno de 20/1, favorece a rápida decomposição e mineralização dos seus resíduos, fazendo com que o seu cultivo em pré-safra de milho proporcione grande aporte de N à cultura e, conseqüentemente, maior absorção de N pelas plantas (Ohland et al., 2005; Albuquerque et al., 2013), podendo contribuir para redução das doses de N mineral recomendadas (Kappes et al., 2013). Por outro lado, os resíduos de gramíneas são mais eficientes na formação de MO de alta estabilidade. Com relação C/N acima de 30/1, os restos vegetais das gramíneas permanecem por mais tempo na superfície do solo devido a sua baixa taxa de decomposição, acarretando em menor aporte de nutrientes em curto prazo e até em imobilização inicial de N pelos microrganismos, o que pode levar a deficiência de N nas plantas de milho cultivadas em sequência (Borkert et al., 2003; Ohland et al., 2005).

Além da característica dos resíduos vegetais, os regimes de temperatura e precipitação também são fatores que influenciam diretamente no processo de mineralização (Acosta et al., 2014). Temperaturas entre 40 a 60°C, bem como umidade em torno de 50 a 70% da capacidade de retenção de água dos solos, são condições que favorecem a atividade dos microrganismos e, conseqüentemente, a mineralização da MOS e disponibilidade do N no solo (Cantarella, 2007).

Dessa forma, devido a influência da qualidade dos resíduos vegetais na dinâmica de liberação de N no solo e a necessidade de complementar a nutrição

nitrogenada das plantas de milho, é preciso adequar a escolha da espécie de cobertura cultivada anteriormente, assim como as doses de N mineral a serem aplicadas. Além disso, as condições climáticas da região de cultivo também devem ser levadas em consideração, por afetarem diretamente a relação mineralização-imobilização e, conseqüentemente, a disponibilidade de N no solo.

A adubação nitrogenada com adubos industriais pode acelerar a decomposição dos resíduos vegetais presentes na área, particularmente se forem resíduos com relação C/N alta e, ainda, pode favorecer a decomposição da MOS por estímulo à atividade microbiana. No entanto, resultados contrários podem ser observados com a aplicação de altas doses de N, isto porque nestas condições pode ocorrer inibição de enzimas que degradam a lignina dos resíduos e, assim, pode aumentar o período de permanência desses resíduos nos solos (Carreiro et al., 2000).

Dessa forma, são necessários mais estudos que associem o uso de plantas de cobertura e a aplicação de doses de N mineral às plantas de milho, principalmente sob condições tropicais de cultivo, para que se possa adequar o manejo da adubação nitrogenada a partir da contribuição das formas minerais e orgânicas de N para a nutrição das plantas.

2.3 Métodos de extração de nitrogênio do solo

Os métodos de análise de solo para quantificar os teores dos macronutrientes primários (fósforo e potássio) e secundários, além dos micronutrientes, já são rotineiramente usados nos laboratórios para auxiliar nas recomendações de adubação. O mesmo não ocorre para o N, apesar dos numerosos estudos para adequação de um método de análise de solo preciso a capaz de estimar a capacidade dos solos em disponibilizá-lo (Bushong et al., 2008; Roberts et al., 2011).

A adubação nitrogenada na cultura do milho deve ser eficientemente manejada para que não seja um fator limitante ao processo produtivo. Atualmente, no Brasil, os produtores contam com o auxílio das recomendações descritas nos boletins, cujas doses variam em função do local de cultivo, da produtividade almejada e da resposta esperada das plantas ao fornecimento de

N (Raij e Cantarella, 1997; Alves et al., 1999). O teor de MOS também é um critério usado em alguns locais para estimar a disponibilidade de N nos solos. Deve-se ressaltar, no entanto, que o manejo sustentável deste nutriente requer a análise completa do suprimento de N do solo e dos resíduos orgânicos (Ros et al., 2011), para que ele não limite o crescimento e desenvolvimento das plantas em função do seu excesso ou a da sua deficiência.

A necessidade de ajustar o manejo da adubação nitrogenada a partir da real disponibilidade deste nutriente no solo aumenta à medida que aumentam as produtividades. A MOS, os resíduos e os adubos orgânicos aplicados nos solos são fontes importantes de N às plantas (Dourado-Neto et al., 2010; Raij, 2017), mas grande parte do N presente nestes componentes do sistema é composta de formas químicas de difícil acesso aos microrganismos (Cantarella, 2007). Apesar disso, sua estimativa pode facilitar o manejo da adubação (Ros et al., 2011) por estimar a quantidade de N do solo que é capaz de suprir as necessidades das plantas (St. Luce et al., 2011).

Há uma grande diversidade de frações do N-orgânico presentes nos solos que são frequentemente identificadas através da hidrólise ácida (Roberts et al., 2009). Dentre estas frações, as principais são o N-aminoácidos e o N-animoaúcares, que representam cerca de 30% a 45% e 5% a 10% do N orgânico dos solos, respectivamente (Stevenson, 1996). Além destas, tem-se ainda a NH_3 , que pode ser liberada do NH_4^+ inorgânico e da hidrólise do N-aminoácidos e do N-animoaúcares, e uma grande quantidade de N presente em formas quimicamente ainda desconhecidas (Cantarella, 2007). Assim, análises que identificam e estimam a fração orgânica do N que pode se tornar disponível às plantas é essencial para que haja avanços no manejo da adubação (Roberts et al., 2009).

A dificuldade de ajustar um método eficiente para análise do N deve-se a sua complexa dinâmica no sistema solo/atmosfera, como já discutido. Os métodos atuais não fornecem resultados precisos quanto a disponibilidade de N no solo, são complexos, demorados (St. Luce et al., 2011), além de não serem utilizados em larga escala e, portanto, não fazerem parte das análises laboratoriais de rotina.

Geralmente, os métodos de análise de N baseiam-se na quantificação do N inorgânico (NH_4^+ e NO_3^-) e no fracionamento do N orgânico do solo por meio

de processos químicos ou biológicos (Cantarella, 2007). Contudo, algumas limitações acabam restringindo o seu uso. No caso da análise do N inorgânico, os resultados obtidos podem ser subestimados devido à alta mobilidade do NO_3^- , enquanto que os métodos para estimar o N potencialmente mineralizável apresentam correlação baixa com o N disponível do solo sob condições de campo (St. Luce et al., 2011), indicando que tais procedimentos não são precisos na quantificação deste nutriente.

Com os métodos biológicos é possível avaliar o teor de N inorgânico obtido da mineralização do N orgânico, por meio da incubação das amostras de solo em condições aeróbicas ou anaeróbicas (Gianello e Bremner, 1986; Bettiol, 2018). Os procedimentos de incubação aeróbia são de longa duração, e os resultados obtidos são baseados em ajustes matemáticos, podendo não expressar as reais condições de campo por serem realizados sob condições controladas de temperatura e umidade (Camargo et al., 1997; Khan et al., 2001; Kuhnen, 2013; Otto et al., 2013; Bettiol, 2018).

Os métodos químicos consistem na estimativa da disponibilidade de uma fração do N orgânico e/ou mineral do solo, a partir do uso de extratores ácidos, alcalinos e agentes oxidantes fortes, usando os procedimentos biológicos como referência para os resultados obtidos (Gianello et al., 2000; Braos et al., 2016; Mariano et al., 2017). Assim, por apresentarem altas correlações com estimativas biológicas do N potencialmente mineralizável e pelo menor tempo para realização das análises, os métodos químicos são uma alternativa interessante de extração do N-orgânico (Roberts et al., 2011; Ros et al., 2011). No entanto, assim como os métodos biológicos, apresentam a limitação de não estimar o real teor de N a ser liberado pela ação dos microrganismos em condições de campo (St. Luce et al., 2011)

Alguns métodos químicos são razoavelmente simples e apoiam-se na hidrólise de compostos orgânicos com soluções salinas a quente. Dentre os procedimentos de extração com soluções salinas, o uso do CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ a quente tem apresentado resultados promissores, principalmente por se correlacionarem com variáveis resposta das plantas, como relatado por Braos et al. (2016). Estes autores, ao avaliarem 17 amostras de solos coletadas na região do planalto ocidental do Estado de São Paulo obtiveram correlação positiva entre o N- CaCl_2 e o N absorvido por plantas de milho cultivadas em casa de vegetação.

No entanto, Bettiol (2018) não obteve correlação entre o extrator e o N absorvido por plantas de milho cultivadas em campo.

Outro método químico frequentemente avaliado é o que utiliza a extração com KCl 2 mol L⁻¹ com aquecimento, proposta por Gianello e Bremner (1986), que se baseia na quantificação de formas solúveis e trocáveis de N, frações solúveis de N orgânico e compostos nitrogenados diversos (St. Luce et al., 2014). Correlações significativas foram observadas por Picone et al. (2002) entre o N mineralizado e o N-KCl 2 mol L⁻¹ a quente, em solo incubado em condições aeróbicas por 24 dias. McDonald et al. (2014) também observaram correlação entre o N-KCl a quente e o N mineralizado em 7 dias de incubação em condições anaeróbicas em solo de pastagem. Correlações do N-KCl a quente com métodos de incubação e com N absorvido por plantas-teste também foram relatadas em outros trabalhos (Gianello et al., 2000; Velthof e Oenema, 2010; Ros et al., 2011). Por se tratar de um método relativamente rápido, simples e barato (Bettiol, 2018), com potencial de extração de N maior do que o obtido com outras soluções salinas, como o CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ (Braos et al., 2016), a extração com KCl tende a apresentar grande potencial para ser utilizada nas análises de rotina.

O protocolo de extração de N com a solução de Ca(H₂PO₄)₂ 0,01 mol L⁻¹ é semelhante ao utilizado para o extrator CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹. No entanto, por ser menos difundido entre os métodos com emprego de soluções salinas, não há muita informação disponível sobre sua eficiência. Bettiol (2018), trabalhando com métodos de extração de N potencialmente mineralizável em solo cultivado com milho após o cultivo de plantas de cobertura combinadas com doses de N, relatou teores de N-Ca(H₂PO₄)₂ semelhantes aos obtidos com solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹.

Alguns autores observaram que um teste eficiente para análise do N deveria estimar a fração de N lábil ou orgânica que seria disponibilizada às plantas por meio da mineralização, e assim, desenvolveram e aprimoraram o método de análise de N denominado Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT) (Mulvaney e Khan, 2001; Mulvaney et al., 2001; Khan et al., 2001). Trata-se de um método em que se promove a difusão direta da NH₃ das amostras de solo pelo tratamento com solução de NaOH para quantificação de N-aminoaçúcares e N-NH₄⁺ trocável do solo, utilizando um recipiente de vidro hermeticamente fechado (Roberts et al., 2009; Bettiol, 2018; Corbo, 2019). A partir dos resultados de N-

ISNT, em regiões dos EUA foi possível identificar áreas de cultivo de milho que respondem e não respondem à adubação nitrogenada (Khan et al., 2001), o que pode ser uma ferramenta chave para ajustar o manejo da adubação nitrogenada das culturas.

No Estado de São Paulo, Otto et al. (2013) classificaram 6 áreas experimentais com base no N-ISNT e na resposta de produção de cana-de-açúcar à adubação nitrogenada em: áreas altamente responsivas à aplicação de fertilizante nitrogenado, em solo com até 57 mg kg⁻¹ de N-ISNT; moderadamente responsivas, N-ISNT entre 77 e 85 mg kg⁻¹ de N; e não-responsivas, N-ISNT entre 175 e 209 mg kg⁻¹. Ruffo et al. (2006) também observaram que o N-ISNT foi eficiente para uso em agricultura de precisão, indicando adequadamente a variabilidade espacial da produtividade do milho. No entanto, Mariano et al. (2017) relataram que o método ISNT não foi eficiente em separar os locais responsivos dos não responsivos à fertilização com nitrogênio. Assim, o ISNT não foi considerado confiável na avaliação do suprimento de N do solo e, portanto, não pode ser usado para ajustar a taxa de fertilização com N para a cana-de-açúcar.

Posteriormente, como uma alternativa ao método ISNT, principalmente com o objetivo de reduzir o tempo de análise, Bushong et al. (2008) e Roberts et al. (2009) desenvolveram outro procedimento de análise, o de destilação a vapor direta (DVD), também baseado em hidrólise alcalina, porém mais rápido e capaz de estimar as frações mais lábeis da MOS com alto nível de precisão (Roberts et al., 2009; Drescher et al., 2016). Assim, ambos os métodos de extração alcalina (ISNT e DVD) são caracterizados por quantificarem praticamente a mesma quantidade de N hidrolisável e por apresentarem altas correlações entre si em condições experimentais controladas, principalmente no que diz respeito aos efeitos da temperatura e umidade. Em condições de campo, tais correlações não têm sido observadas (Barker et al., 2006).

Dessa forma, é importante avaliar, em condições de campo, os métodos baseados na extração do N com soluções salinas e com hidrólise alcalina, de modo a obter resultados precisos para avaliar a eficiência destes métodos e empregá-los nos programas de recomendação de adubação nitrogenada. No caso da cultura do milho, devido à importância do N para o crescimento, desenvolvimento e produtividade das plantas, a validação de tais métodos é de

extrema relevância para ajustar a adubação, evitando que seu excesso ou deficiência seja um fator limitante ao processo produtivo. Além disso, os diferentes sistemas de manejo em que o milho pode ser cultivado podem dificultar ainda mais a adequação da fertilização nitrogenada por afetar diretamente a dinâmica do N, principalmente se tratando de sistema de plantio direto com o cultivo prévio de espécies leguminosas e/ou gramíneas. Assim, uma ferramenta que auxilie na estimativa do teor de N potencialmente mineralizável pode, além de facilitar as fertilizações com N, reduzir os custos de produção devido à economia e maior eficiência de uso dos fertilizantes minerais e, ainda, pode auxiliar no controle da qualidade ambiental.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização, solo, clima e histórico da área do experimento

O experimento foi instalado na FCAV-Unesp, município de Jaboticabal-SP. A fazenda localiza-se entre 21°15'22" de latitude Sul e 48°16'43" de longitude Oeste, com altitude de aproximadamente 607 m. A pluviosidade anual média da região é de 1.424,6 mm, a temperatura média anual é de 22,2°C e o clima é tropical úmido com período de estiagem no inverno, classificado como Aw pelo sistema de classificação de Koppen. O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico, textura argilosa típico (Andrioli e Centurion, 1999).

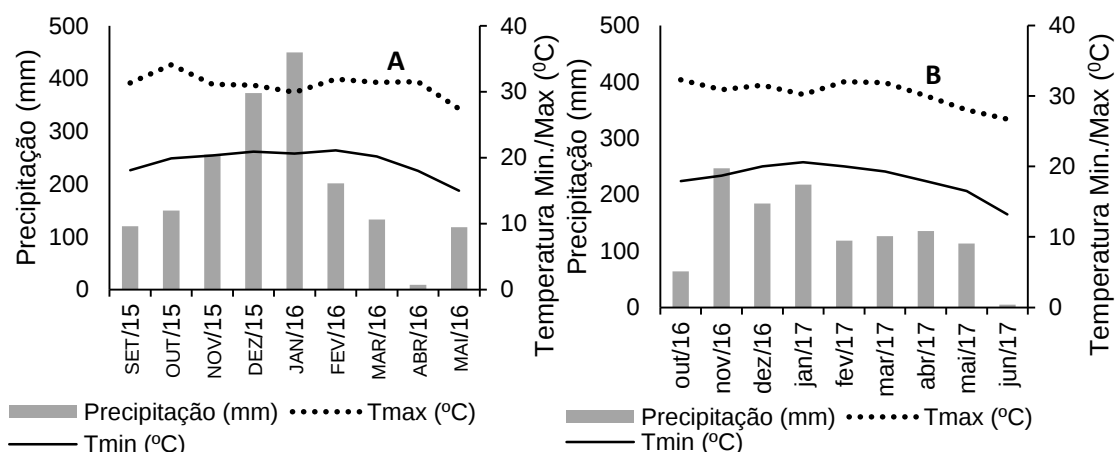
A área do experimento onde foram coletadas as amostras de solo está em sistema de semeadura direta desde a safra 1998/99. O experimento utilizando plantas de cobertura em pré-safra à cultura do milho iniciou no ano de 2000. Antes da instalação do experimento foi feita a caracterização química e granulométrica do solo nas camadas de 0-20, 20-40 e 40-60 cm, usando métodos descritos em Raij et al. (2001) e Donagema (2011), respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Atributos químicos e granulometria do solo da área do experimento, 2000/2001.

Prof.	P resina	MO	pH CaCl ₂	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	H+Al	CTC	V	Argila	Silte	Areia
Cm	mg dm ⁻³	g dm ⁻³							%			
0-20	58	20	4,5	3,1	13	6	47	69	32	474	27	499
20-40	12	15	4,3	2,0	10	4	42	58	28	497	22	481
40-60	7	13	4,5	1,2	9	4	34	48	29	504	29	467

3.2. Dados climáticos

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

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

3.3. Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi instalado em blocos casualizados com parcelas subdivididas e quatro repetições. Os tratamentos principais são cinco culturas de cobertura em pré-safra à cultura do milho, mais um tratamento com vegetação espontânea. As culturas são crotalária (*Crotalaria juncea*), feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), lablab (*Dolichos lablab*), mucuna-cinza (*Mucuna cinerea*) e milheto (*Pennisetum americanum*). Na área em pousio, as espécies predominantes no ano da coleta de solo foram picão-preto (*Eupatorium ballataefolium*), corda-de-viola (*Ipomoea* sp.), guanxuma, carrapicho-de-carneiro

(*Acanthospermum hispidum*), fedegoso (*Senna occidentalis*), capim-colchão (*Digitaria horizontalis*) e leiteira (*Euphorbia heterophylla*). Os tratamentos secundários são quatro doses de N-ureia em cobertura na cultura do milho (0, 60, 120 e 180 kg ha⁻¹ de N). As parcelas medem 18x7 m e as subparcelas, 4,5x7m.

3.4. Coleta das amostras de solo

As amostras de solo foram coletadas na área útil das parcelas cultivadas com feijão-de-porco, mucuna-cinza, milheto e vegetação espontânea, e nas subparcelas nas quais foram aplicadas as doses de N em cobertura no milho (0, 60, 120 e 180 kg ha⁻¹). A coleta de solo foi feita após a colheita do milho na safra 2015/2016, com trado holandês, nas entrelinhas do milho e na camada de 0-10 cm. Para obtenção das amostras compostas foram coletadas e homogeneizadas 15 amostras simples por parcela. As amostras foram secas ao ar e passadas em peneira de malha de 2 mm. Nessas amostras foi feita a extração do N orgânico potencialmente mineralizável empregando soluções salinas de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹, Ca(H₂PO₄)₂ 0,01 mol L⁻¹ e KCl 2 mol L⁻¹, todas com aquecimento, e também utilizando hidrólise alcalina (N-ISNT e N-DVD).

3.5. Extração do N orgânico potencialmente mineralizável nas amostras de solo

a) CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ a quente (Braos, 2012): Amostras de 4 cm³ de solo foram transferidas para tubos de digestão, aos quais foram adicionados 30 mL de solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹. Os tubos foram tampados com rolhas de silicone fixadas com fita adesiva e a suspensão foi aquecida por 16 horas, em bloco de aquecimento pré-aquecido a 80°C. Após o período de aquecimento, a suspensão foi resfriada e alíquota de 10 mL do sobrenadante contendo o N-NH₄⁺ hidrolisado foi usada na destilação, usando MgO como alcalinizante e seguindo os procedimentos descritos em Cantarella e Trivelin (2001).

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

c) KCl 2 mol L⁻¹ a quente (Gianello e Bremner, 1986): A extração foi feita em tubos de digestão, para os quais foram transferidos 2,5 cm³ de solo e 20 mL de solução de KCl 2 mol L⁻¹. Durante o aquecimento em bloco digestor a 100°C por 4 horas, os tubos foram mantidos tampados com rolhas de silicone fixadas com fita adesiva. Após o aquecimento, os tubos contendo as amostras foram resfriados em água corrente e foi adicionado 0,2 g de MgO com medida calibrada, para conversão de N-NH_4^+ a N-NH_3 , e a amostra foi destilada de acordo com os procedimentos de Cantarella e Trivelin (2001).

d) Método de Illinois (N-ISNT) (Khan et al., 2001): Um cm³ de solo foi transferido para recipiente com tampa de fechamento hermético e capacidade para 473 mL (Mason jar) (Figura 2). Um béquer com capacidade para 50 mL contendo 5 mL de solução de H_3BO_3 20 g L⁻¹ foi colocado no interior do recipiente substituindo a placa de Petri recomendada no método original. O béquer foi preso à tampa do recipiente com auxílio de uma abraçadeira de nylon e um parafuso. Este sistema foi usado para manter o béquer suspenso no interior do recipiente quando ele é fechado.

Para o recipiente contendo o solo foram transferidos 10 mL de solução de NaOH 2 mol L⁻¹ e, em seguida, ele foi tampado e colocado em banho-maria a 48-50°C por cinco horas. O aquecimento em banho foi utilizado para substituir o aquecimento em chapa aquecedora recomendado pelos autores do método, porque no banho a variação na temperatura é menor. Ao término do aquecimento, o béquer contendo a solução de H_3BO_3 foi retirado, a solução foi diluída com 5 mL de água desionizada e titulada com solução padronizada de H_2SO_4 0,02 mol L⁻¹ para determinação do N orgânico potencialmente disponível.



Figura 2. Recipiente hermeticamente fechado (Mason jar) com as adaptações para determinação do N pelo método Illinois Soil Nitrogen Test (N-ISNT).

e) Destilação a vapor direta (Roberts et al., 2009): Um grama de solo foi transferido para tubo de vidro com 50 mm de diâmetro interno e 250 mm de altura (tubo macro), o qual foi adaptado ao destilador. Em seguida, foi feita adição de 10 mL de solução de NaOH 10 mol L⁻¹. A mistura foi submetida à destilação até obtenção de 35-40 mL do destilado, que foi recolhido em 10 mL de solução de H₃BO₃ 20 g L⁻¹. O N-NH₄⁺ foi quantificado por titulação do destilado com solução de H₂SO₄ 0,0055 mol L⁻¹.

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

3.6. Determinação do N acumulado pelas plantas de milho

Este conjunto de dados foi obtido anteriormente e encontra-se publicado em Bettiol (2018).

3.7. Análise dos resultados

Com os resultados obtidos foi realizada a análise de variância pelo teste F para verificar o efeito das plantas de cobertura e das doses de N no N potencialmente mineralizável determinado com os métodos. Os efeitos das plantas de cobertura foram comparados pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade e os efeitos das doses de N ou o estudo das interações foi feito por meio de análise de regressão. Posteriormente, para constatação da eficiência dos métodos na predição do fornecimento de N para o milho, foram feitas análises de correlação entre o N orgânico mineralizável determinado pelos métodos químicos e o N absorvido pelo milho na safra 2016/2017.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Métodos de extração do N orgânico potencialmente mineralizável com soluções salinas

Não houve efeito das plantas de cobertura no N extraído do solo com a solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, mas ocorreu efeito de doses de N e da interação entre os tratamentos. Deste modo, diferenças entre as plantas de cobertura ocorreram apenas nas doses de 120 e 180 kg ha^{-1} de N, com maiores teores de N no solo após os cultivos de feijão-de-porco e mucuna-cinza, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Nitrogênio extraído do solo com solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ em função de plantas de cobertura e de doses de nitrogênio.

Doses de N (kg ha^{-1})	N- CaCl_2				Média	Teste F	CV (%)
	Feijão-de-porco	Milheto	Mucuna-cinza	Vegetação espontânea			
	-----(mg kg^{-1})-----						
0	6,01a	5,21a	7,60a	5,70a	6,13		
60	10,74a	9,86a	12,04a	9,02a	10,41		
120	16,51a	8,33c	11,39bc	13,84ab	12,51		
180	5,70b	8,62ab	10,77a	5,80b	7,72		
Média	9,74	8,00	10,45	8,59			
PC ⁽¹⁾						2,37ns	31,17
D ⁽²⁾						21,47**	26,58
PCxD						3,56**	

Valores seguidos pelas mesmas letras nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **: significativo a 1% de probabilidade; ns: não significativo. ⁽¹⁾ Plantas de cobertura. ⁽²⁾ Dose de N aplicada em cobertura na cultura do milho.

As doses de N não afetaram os teores de N- CaCl_2 nas áreas com cultivo de milho, mas os teores de N do solo cultivado com feijão-de-porco, mucuna-cinza e vegetação espontânea ajustaram-se ao modelo quadrático em função das doses de N, com os maiores teores nas doses estimadas de 92, 97 e 94 kg ha^{-1} de N, respectivamente (Figura 3).

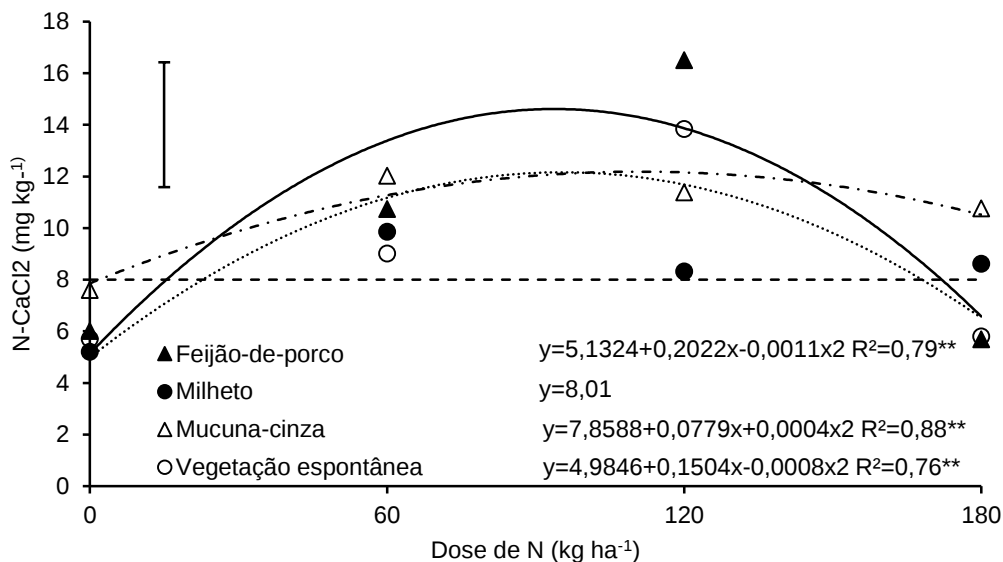


Figura 3. Efeito do N aplicado em cobertura no milho no N orgânico mineralizável extraído com solução de CaCl_2 0,01 mol L^{-1} , em função da plantas de cobertura e de doses de N.

Estes resultados indicam que aplicação de aproximadamente 95 kg ha^{-1} de N em cobertura no milho cultivado em sucessão a leguminosas promove aumento da reserva de N potencialmente mineralizável do solo medido com solução diluída de CaCl_2 , e que doses maiores do que a mencionada podem interferir negativamente no potencial de fornecimento de N do solo para a cultura. A adubação nitrogenada pode contribuir com o aumento do N total do solo em longo prazo, como relatado por Weber e Mielniczuk (2009). Estes autores relataram que em sistemas cultivados apenas por gramíneas em plantio direto, sem aplicação de adubo nitrogenado, houve decréscimo médio de 250 kg ha^{-1} de N total do solo em 22 anos, enquanto que, com adição de N, os mesmos sistemas acumularam 60 kg ha^{-1} de N. Contudo, o N total é uma variável que se associa muito mais ao fornecimento de longo prazo, ao contrário do N disponível,

que deve refletir a capacidade de fornecimento de N do solo para as plantas em curto prazo.

No presente trabalho, apesar de os teores de N- CaCl_2 terem sido afetados pela interação entre os tratamentos (plantas de cobertura x doses de N), e de ter sido observado aumento no N- CaCl_2 nas sucessões leguminosas x milho, isso não refletiu em maiores quantidades de N acumuladas na parte aérea das plantas de milho, e por isso não houve correlação significativa entre o N- CaCl_2 e o N absorvido (Figura 4). Em avaliação anterior no mesmo experimento, Bettiol (2018) também não obteve correlação significativa entre essas variáveis.

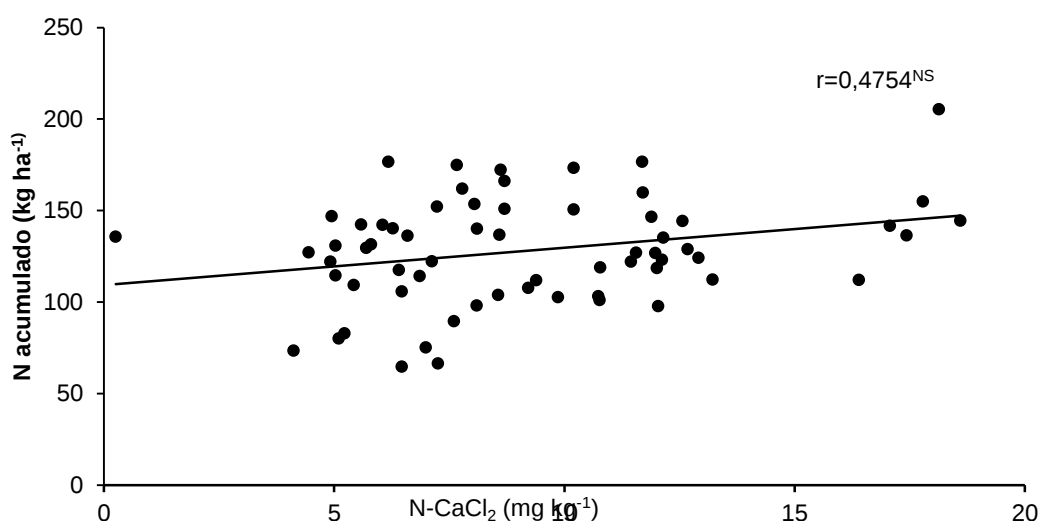


Figura 4. Correlação de Pearson (r) entre teores de N- CaCl_2 0,01 mol L⁻¹ e N acumulado pelas plantas de milho.

Os teores de N potencialmente mineralizável obtidos com solução de $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ 0,01 mol L⁻¹ foram afetados apenas pelas plantas de cobertura e doses de N (Tabela 3). O cultivo de mucuna-cinza em pré-safra do milho aumentou os teores de N- $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ no solo. Com o cultivo prévio de feijão-deporco os teores foram intermediários e semelhantes aos obtidos com as demais espécies de cobertura, e com a vegetação espontânea foram observados os menores teores. O N extraído do solo com solução de $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ após o cultivo da mucuna-cinza foi 26% e 32% maior em relação ao milheto e à vegetação espontânea, respectivamente.

Tabela 3. Nitrogênio extraído com solução de $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ a quente em função de plantas de cobertura e doses de nitrogênio.

N- $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$						Teste F	CV (%)
Doses de N (kg ha^{-1})	Feijão-de-porco	Milheto	Mucuna-cinza	Vegetação espontânea	Média		
	-----(mg kg^{-1})-----						
0	7,94	7,32	8,46	7,64	7,84		
60	9,89	8,11	8,37	6,93	8,32		
120	9,94	9,12	12,52	9,69	10,31		
180	6,27	4,85	9,58	6,60	6,82		
Média	8,51ab	7,35b	9,73a	7,71b			
PC ⁽¹⁾						9,75**	16,22
D ⁽²⁾						13,49**	19,17
PCxD						1,82ns	

Valores seguidos pelas mesmas letras nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **: significativo a 1% de probabilidade; ns: não significativo. ⁽¹⁾ Plantas de cobertura. ⁽²⁾ Dose de N aplicada em cobertura na cultura do milho.

As doses de N aplicadas em cobertura resultaram em aumento do N- $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ até a dose de 80 kg ha^{-1} , com diminuição posterior segundo modelo quadrático (Figura 5). No ponto de máximo da curva o aumento no N extraído foi de 26% em comparação a não aplicação de N em cobertura no milho.

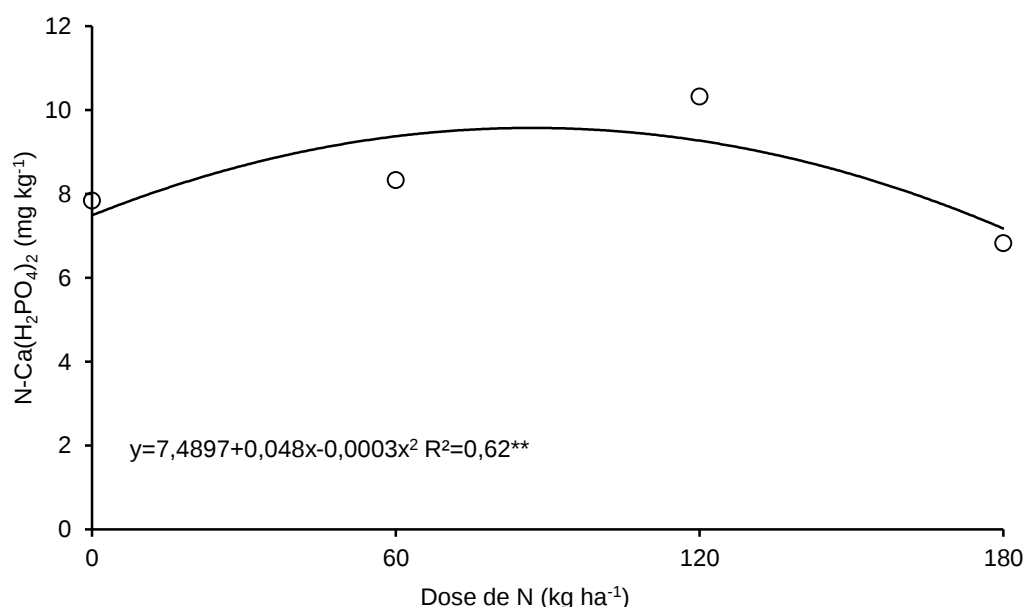


Figura 6. Efeito do N aplicado em cobertura no milho no N orgânico mineralizável extraído com solução de $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, na média das plantas de cobertura e das doses de N.

Bettiol (2018), trabalhando na mesma área e safra com amostras de solo coletadas na profundidade de 0-20 cm, não obteve efeitos significativos de ambos os fatores isolados, bem como da interação entre estes, no $\text{N-Ca(H}_2\text{PO}_4)_2$. A diferença dos resultados obtidos nesse estudo em relação aos relatados por Bettiol (2018) deve estar relacionada a profundidade de amostragem do solo, já que a camada de 0-10 cm tende a apresentar maiores acúmulos de matéria orgânica e N total, refletindo em respostas mensuráveis e significativas do N-fosfato às plantas de cobertura e doses de N. No entanto, assim como ocorreu com o extrator CaCl_2 , isso não refletiu em maiores quantidades de N acumuladas pelas plantas de milho, e não houve correlação significativa entre o $\text{N-Ca(H}_2\text{PO}_4)_2$ e o N acumulado (Figura 6).

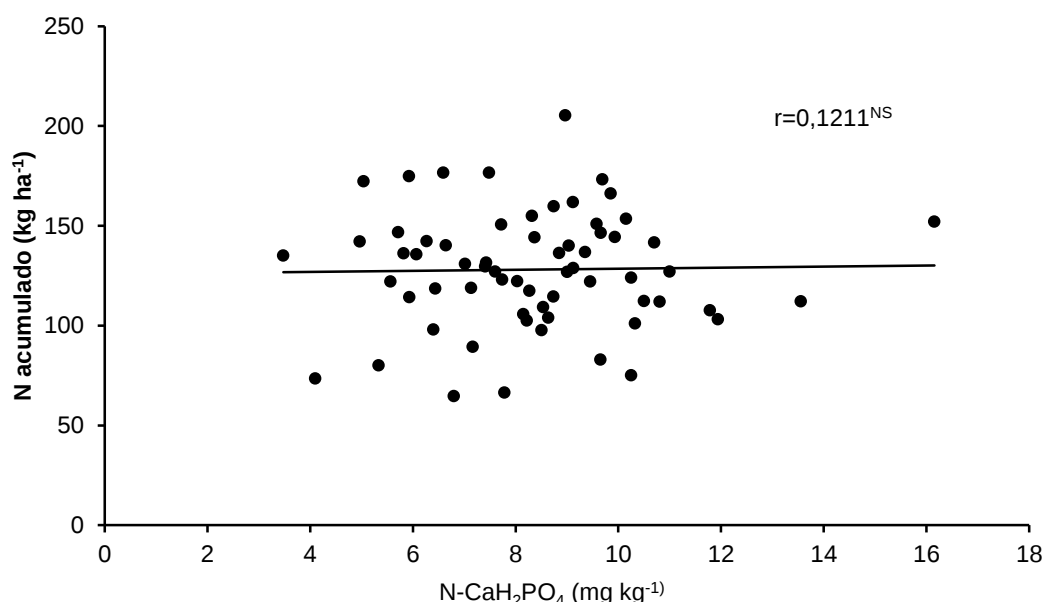


Figura 6. Correlação de Pearson (r) entre teores de $\text{N-Ca(H}_2\text{PO}_4)_2$ e N acumulado pelas plantas de milho.

Com ambos os extratores, CaCl_2 0,01 mol L⁻¹ e $\text{Ca(H}_2\text{PO}_4)_2$ 0,01 mol L⁻¹, o cultivo prévio de milheto levou a diminuição nos teores de N orgânico mineralizável (Tabelas 2 e 3), principalmente nas maiores doses de N avaliadas nesse estudo, o que também foi observado por Praveen-Kumar et al. (2002) com o cultivo de milho após milheto. Isto ocorreu provavelmente devido à alta relação C/N das duas espécies do sistema, que favorece a imobilização do N, e ao alto teor de fibras e lignina de ambas, que provavelmente contribui para formação de matéria orgânica de alta estabilidade quando na presença de grande quantidade

de N mineral. Dijkstra et al. (2004) relataram que ocorre reação entre o N e a lignina dos resíduos vegetais, originando compostos mais resistentes a decomposição.

As quantidades de N extraídas com KCl 2 mol L⁻¹ a quente foram influenciadas apenas pelas doses de N aplicadas em cobertura no milho, e variaram de 18,49 a 40,90 mg kg⁻¹ (Tabela 4).

Tabela 4. Nitrogênio extraído com solução de KCl 2 mol L⁻¹ em função de plantas de cobertura e doses de nitrogênio.

Doses de N (kg ha ⁻¹)	N-KCl				Média	Teste F	CV (%)
	Feijão-de-porco	Milheto	Mucuna-cinza	Vegetação espontânea			
0	31,34	29,55	31,32	34,34	31,63		
60	28,85	24,53	30,03	24,20	26,90		
120	29,05	23,22	23,47	18,49	23,55		
180	33,05	40,90	35,41	31,70	35,26		
Média	30,57	29,55	30,05	27,18			
PC ⁽¹⁾						1,31ns	17,80
D ⁽²⁾						15,78**	17,68
PCxD						1,93ns	

Valores seguidos pelas mesmas letras nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). **: significativo a 1% de probabilidade; ns: não significativo. ⁽¹⁾ Plantas de cobertura. ⁽²⁾ Dose de N aplicada em cobertura na cultura do milho.

As doses de N resultaram em efeito quadrático no N-KCl, com mínimo em 88 kg ha⁻¹, ou seja, na ausência da aplicação de N o N extraído foi 35% maior (Figura 7).

Este resultado indica que pode ter ocorrido efeito residual do N mineral aplicado em doses acima de 88 kg ha⁻¹, favorecendo a formação de compostos orgânicos, o que causou aumento no N-KCl, uma vez que o N do adubo verde e do adubo industrial remanescentes no solo após os cultivos é encontrado, predominantemente, na forma de compostos orgânicos, cuja conversão para formas disponíveis é lenta (Scivittaro et al., 2003).

Pode-se observar que entre os métodos salinos de extração, a solução de KCl 2 mol L⁻¹ apresentou a maior força de extração de N (Tabelas 2, 3 e 4), o que se deve à maior concentração da solução. Torna-se necessário destacar que outros fatores também podem afetar o potencial de extração dos métodos, como a natureza do sal, a relação solo-solução, a duração e a temperatura de extração (Ros et al., 2009). Como exemplo disto, Gianello et al. (2000), ao

trabalharem com a solução de KCl 2 mol L⁻¹, obtiveram aumento nas quantidades de N amoniacal extraído das amostras de solo quando o tempo de aquecimento foi aumentado de 4 h para 16 h. Tal resultado demonstra que o aumento no tempo de aquecimento para um mesmo extrator é relevante para a obtenção de teores mais elevados, e isso pode aumentar a precisão dos resultados.

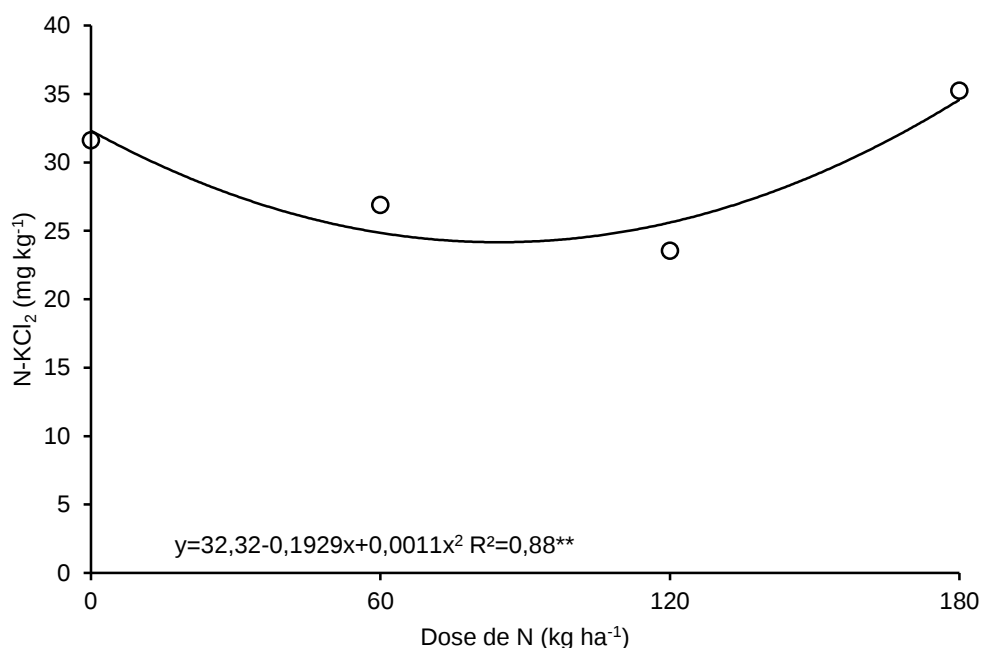


Figura 7. Efeito do N aplicado em cobertura no milho no N orgânico mineralizável extraído com solução de KCl 2 mol L⁻¹, na média das plantas de cobertura e das doses de N.

No entanto, mesmo resultando em maiores teores de N em relação ao N-CaCl₂ e Ca(H₂PO₄)₂, ambos com concentração de 0,01 mol L⁻¹, os teores de N-KCl não se correlacionaram com o N acumulado pelo milho (Figura 8), ou seja, este método não foi eficiente para refletir a disponibilidade de N, assim como os demais.

Correlações significativas entre o N-KCl e o N absorvido por plantas de milho foram obtidas em experimentos conduzidos sob condições controladas (Cantarella et al., 1994; Braos et al., 2016). Cantarella et al. (1994), ao replicarem o experimento em condições de campo, relataram que os resultados obtidos não se confirmaram, assim como ocorreu nesse estudo. Assim, embora Gianello et al. (2000) tenham obtido altas correlações entre estas variáveis, permitindo a validação do método de extração com KCl 2 mol L⁻¹ por 16 h à 95°C, os

resultados foram obtidos em condições controladas, uma vez que, ainda que os vasos tenham sido distribuídos em área aberta, ficando sujeitos à temperatura e precipitações naturais, isso não reflete as reais condições de crescimento e desenvolvimento das plantas quando cultivadas em campo.

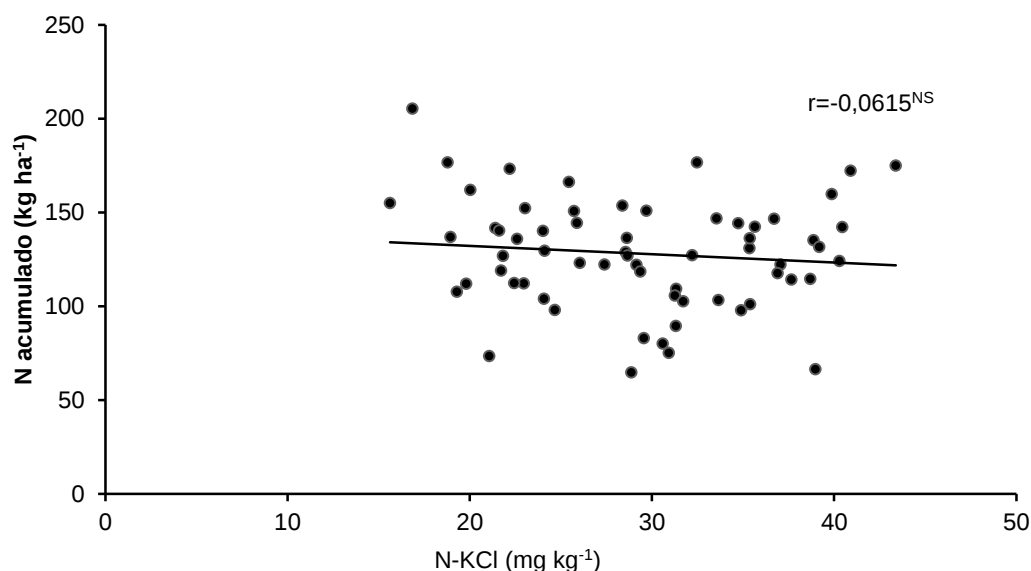


Figura 8. Correlação de Pearson (r) entre teores de N-KCl e N absorvido pelas plantas de milho.

A não correlação dos extratores salinos com o N absorvido pelo milho pode também ser explicada pela longa duração do experimento (15 anos), em solo argiloso e em sistema de plantio direto, o que resulta em matéria orgânica de alta estabilidade. De acordo com Ros et al. (2011), a maior estabilidade da MOS reduz o potencial de extração de N pelas soluções salinas, em função da complexação do N orgânico com os minerais de argila (Cantarella, 2007), o que pode ser comprovado pela correlação negativa entre o N potencialmente disponível e o teor de argila relatada por Ros et al. (2011). Contudo, há relatos de resultados opostos, ou seja, o maior teor de argila contribuiu para a obtenção de teores maiores de N no extrato, os quais foram atribuídos a desestruturação que ocorre durante o preparo das amostras dos solos analisados (Braos et al., 2016).

4.2 Métodos de extração do N orgânico potencialmente mineralizável com soluções alcalinas

Os teores de N-DVD variaram em função dos fatores isolados, plantas de cobertura e doses de N, e pela interação plantas de cobertura x doses de N (Tabela 5).

Tabela 5. N-DVD em função de plantas de cobertura e doses de nitrogênio.

N-DVD						
Doses de N (kg ha ⁻¹)	Feijão-de-porco	Milheto	Mucuna-cinza	Vegetação espontânea	Média	Teste F
	(mg kg ⁻¹)					CV (%)
0	65,86ab	63,09b	90,82a	90,54ab	77,57	
60	93,25b	90,78b	137,48a	85,64b	101,78	
120	117,01a	91,65ab	83,06b	74,60b	110,23	
180	98,87a	95,83a	86,33a	76,21a	89,31a	
Média	93,74	85,34	99,42	81,74		
PC ⁽¹⁾					4,34*	17,08
D ⁽²⁾					7,73**	15,87
PCxD					6,46**	

Valores seguidos pelas mesmas letras nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **: significativo a 1% de probabilidade; ns: não significativo. ⁽¹⁾ Plantas de cobertura. ⁽²⁾ Dose de N aplicada em cobertura na cultura do milho.

O cultivo de mucuna-cinza como planta de cobertura resultou nos maiores teores de N-DVD quando em combinação com 0 e 60 kg ha⁻¹ de N em cobertura no milho, sendo que no tratamento sem adubação, os resultados obtidos com mucuna e vegetação espontânea foram semelhantes. Na média, o cultivo prévio de mucuna-cinza aumentou em 53% o teor de N quando comparado aos demais tratamentos, na dose de 60 kg ha⁻¹ de N. Quando aplicada a dose de 120 kg ha⁻¹ de N, o tratamento com feijão-de-porco foi o que se destacou, com aumento médio de 49% no N-DVD em relação aos tratamentos com mucuna-cinza e vegetação espontânea, e na dose de 180 kg ha⁻¹ de N o N-DVD não variou em função das plantas de cobertura.

As doses de N aplicadas em cobertura não afetaram o teor de N-DVD no cultivo de mucuna-cinza e vegetação espontânea em pré-safra ao milho (Figura 9). No tratamento com feijão-de-porco, o N-DVD aumentou de forma quadrática até a dose de 121 kg ha⁻¹ de N, e com o cultivo de milho o teor deste nutriente aumentou linearmente com o aumento das doses de N.

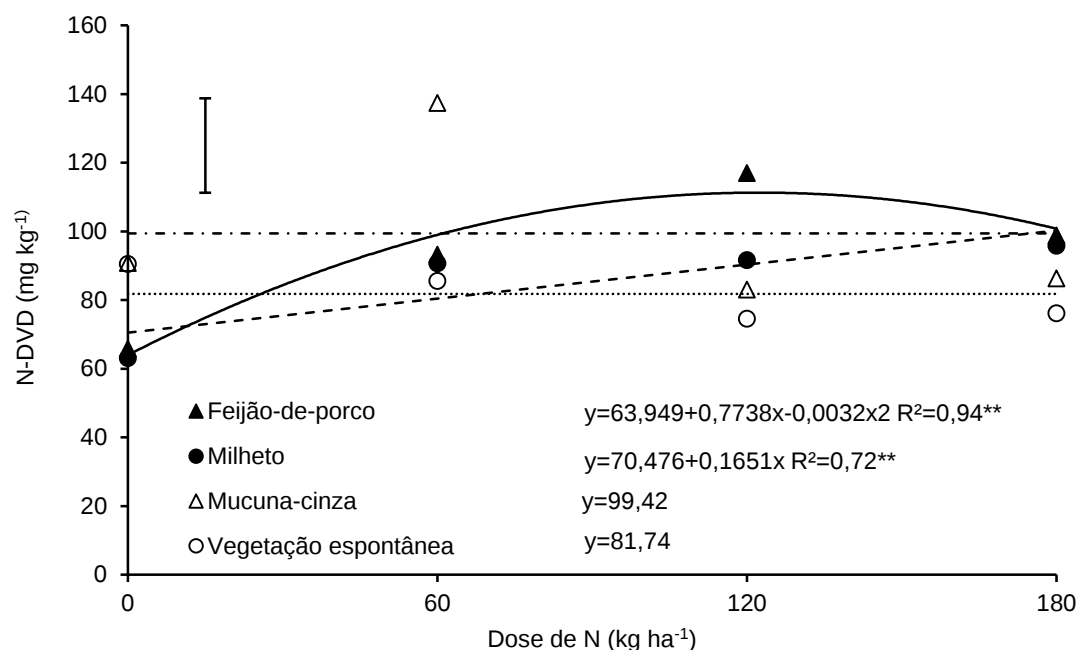


Figura 9. Efeito do N aplicado em cobertura no milho no N orgânico mineralizável extraído por hidrólise alcalina usando destilação a vapor direta (N-DVD), em função de plantas de cobertura e doses de N.

Vários autores relatam a eficiência do método de destilação a vapor direta na avaliação da disponibilidade de N ao compará-lo com o N mineralizado avaliado por métodos de incubação, ressaltando que estes resultados podem ser ainda mais confiáveis se tais ajustes forem realizados em solos semelhantes aos estudados quanto às suas propriedades físicas e químicas (Sharifi et al., 2007; Bushong et al., 2008; Drescher et al., 2016). No entanto, a capacidade do método em prever a disponibilidade de N em condições de campo não foi demonstrada nesse estudo, uma vez que não houve correlação entre o N-DVD e o N absorvido pelas plantas de milho (Figura 10), indicando a vulnerabilidade deste método em conseguir simular as reais condições em que as plantas estão sendo cultivadas.

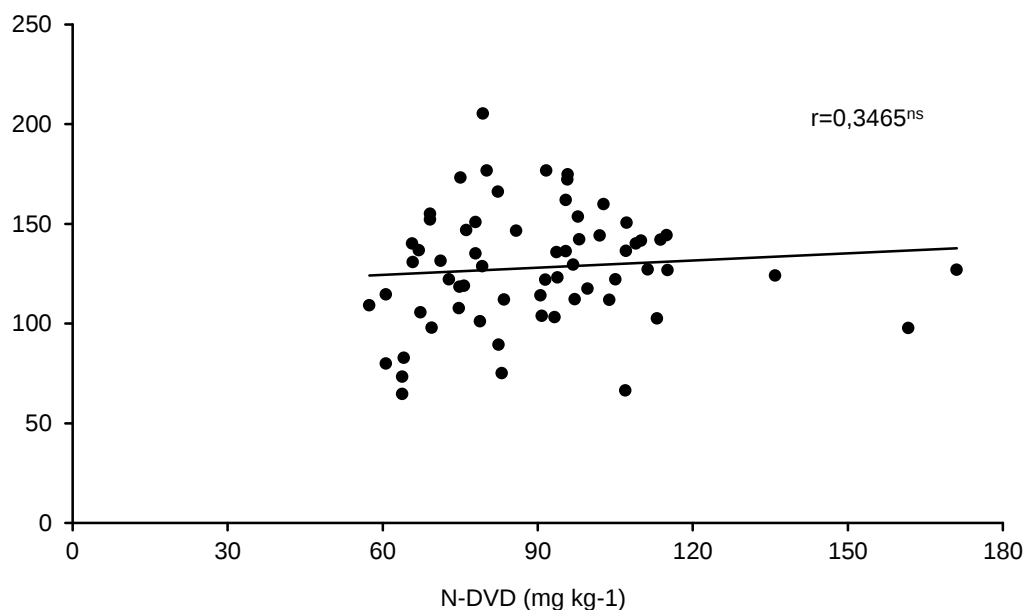


Figura 10. Correlação de Pearson (r) entre teores de N-DVD e N absorvido pelas plantas de milho.

Apenas as plantas de cobertura influenciaram os teores de N-ISNT (Tabela 6). Os tratamentos com cultivo prévio de feijão-de-porco e mucuna-cinza aumentaram cerca de 8% a 9% os teores de N-ISNT em relação a vegetação espontânea.

Isto ocorreu porque tanto mucuna-cinza quanto feijão-de-porco são espécies da família *Fabaceae* que depositam grande quantidade de material orgânico nos solos, com elevado teor de N, devido às características destas plantas em realizarem a fixação biológica (Bertin et al., 2005; Boer et al., 2007; Rodrigues et al., 2012; Padovan et al., 2013; Pacheco et al., 2017; Amorim et al., 2020). Este resultado também foi observado por Praveen-Kumar et al. (2002), os quais relataram que os maiores teores de N-aminoácidos e N-aminoaçúcares ocorreram após o cultivo de leguminosas em comparação ao cultivo de milho. Este resultado, provavelmente, deve-se a transformação do N orgânico das espécies leguminosas, originado da fixação biológica, às formas orgânicas de N-aminoácidos e N-aminoaçúcares realizada pela microbiota do solo (Praveen-Kumar et al., 2002).

Tabela 6. N-ISNT em função de plantas de cobertura e doses de nitrogênio.

Doses de N (kg ha ⁻¹)	N-ISNT					Teste F	CV (%)
	Feijão-de-porco	Milheto	Mucuna-cinza	Vegetação espontânea	Média		
	----- (mg kg ⁻¹) -----						
0	84,17	79,45	83,89	82,43	82,48		
60	100,89	89,44	99,22	87,22	94,19		
120	82,34	81,16	77,16	74,48	78,78		
180	93,95	90,34	97,33	86,73	92,08		
Média	90,33a	85,07ab	89,4a	82,71b			
PC ⁽¹⁾						7,72**	5,95
D ⁽²⁾						22,78ns	7,16
PCxD						1,17ns	

Valores seguidos pelas mesmas letras nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **: significativo a 1% de probabilidade; ns: não significativo. ⁽¹⁾ Plantas de cobertura. ⁽²⁾ Dose de N aplicada em cobertura na cultura do milho.

A eficiência dos métodos de extração alcalinos tem sido ressaltada em vários trabalhos (Khan et al., 2001; Braos et al., 2016; Davidson et al., 2020). Especificamente, há referência a eficiência do N-ISNT para detectar e recomendar N fertilizante para as culturas de cana-de-açúcar (Otto et al., 2013; Mariano et al., 2017), milho (Roberts et al., 2009a; Wall et al., 2010), arroz (Davidson et al., 2020), batata (Sharifi et al., 2007) e trigo (Steckler et al., 2008).

A partir dos resultados de N extraído pelo método ISNT, Mulvaney e Khan (2001) e Khan et al. (2001), em experimentos conduzidos sob condições de campo, conseguiram identificar locais que não apresentavam respostas à adubação nitrogenada. No entanto, há na literatura resultados que demonstram correlações muito baixas entre o N-ISNT e a resposta das plantas de milho ao N (Barker et al., 2006), como ocorreu nesse estudo, uma vez não houve correlação entre o N-ISNT e N acumulado pelo milho (Figura 11). A explicação para a não correlação pode estar associada ao fato de este método extrair uma fração constante do N total do solo, que pode não representar a fração lábil do N orgânico (Braos et al., 2016).

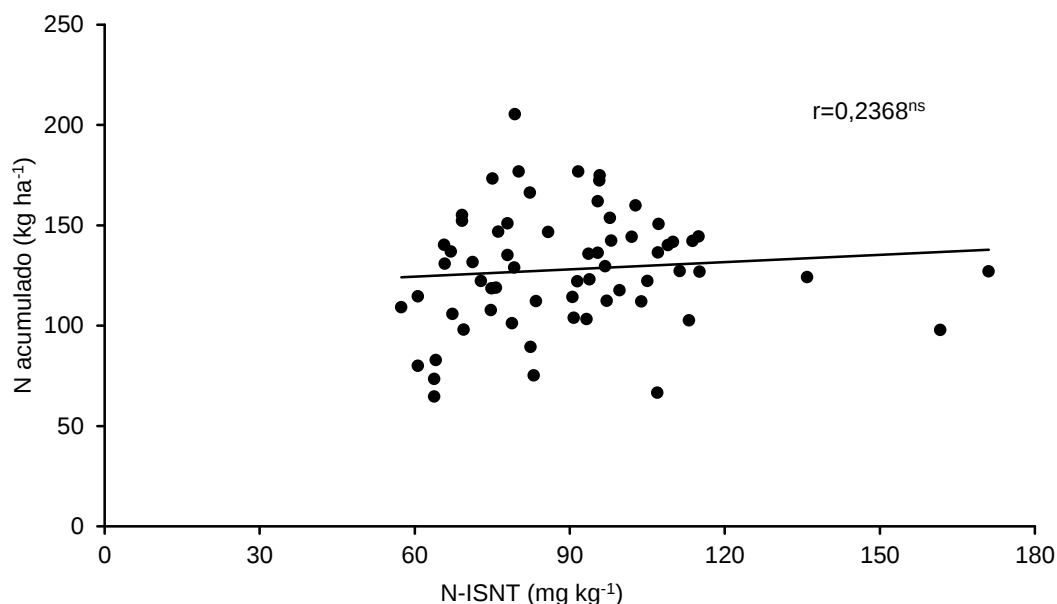


Figura 11. Correlação de Pearson (r) entre teores de N-ISNT e N acumulado pelo milho.

Ambos os métodos de extração com soluções alcalinas avaliados nesse estudo são caracterizados por extraírem a fração N-aminoaçúcares, que embora represente uma pequena porção da fração orgânica de N, cerca de 5% a 10% (Cantarella, 2007), contém formas mais lábeis do N orgânico presente nos solos. Assim, por extraírem as mesmas frações de N dos resíduos orgânicos, pode-se verificar uma certa aproximação entre os resultados obtidos da extração de N-ISNT e N-DVD, independentemente da planta de cobertura utilizada e da dose de N (Tabelas 5 e 6), resultado este que pode ser confirmado a partir da correlação positiva entre os dois métodos, sugerindo que ambos extraem N do mesmo compartimento do solo ($r=0,5006^*$). Por outro lado, Roberts et al. (2009), ao avaliarem os métodos ISNT e DVD, obtiveram maior recuperação do N-aminoaçúcares pelo ISNT, provavelmente devido ao maior tempo de difusão em relação ao menor período de destilação do DVD.

Para a validação e ampla utilização de um método de extração do N potencialmente mineralizável na rotina dos laboratórios de análises de solos, é necessário que os teores obtidos no solo apresentem alta correlação com as respostas das plantas cultivadas em condições de campo, uma vez que as plantas são capazes de alterar a dinâmica do processo de mineralização de N no solo (Gianello et al., 2000; Roberts et al., 2011; Braos et al., 2016). No entanto, como já citado, os teores de N obtidos, seja com soluções salinas ou por hidrólise

alcalina, não correlacionaram com o N absorvido pelas plantas de milho, que é a variável de referência neste estudo de eficiência dos métodos. Parte das explicações para este resultado pode estar na precipitação pluvial baixa na safra 2016/2017. Para absorção de N há necessidade de água para que ocorra o contato entre o N e a raiz das plantas de milho através de fluxo de massa (Cantarella, 2007), e como o milho foi semeado tardiamente, com média de precipitações abaixo dos 600 mm requeridos (Magalhães e Durães, 2016) durante o ciclo (Figura 1 b, safra 2016/2017), a falta de água pode ter sido um fator limitante ao processo de absorção, resultando na ausência das correlações. Além disso, para análise do N absorvido, as plantas de milho foram cortadas rente ao solo, desconsiderando o acúmulo de N nas raízes. Como há relatos na literatura de que a maior parte do N absorvido tende a permanecer nas raízes das plantas de milho (Azam et al., 1985), isso pode ter contribuído para os resultados encontrados nesse estudo.

Bettiol (2018), ao trabalhar nessa mesma safra e área de cultivo, relatou ausência da resposta do N absorvido pelas plantas de milho aos tratamentos avaliados (plantas de cobertura e dose de N), justificando que poderia ser efeito da imobilização (nos tratamentos com gramíneas) ou da rápida mineralização do N no início do ciclo da cultura do milho (nos tratamentos com leguminosas), favorecendo perdas por lixiviação. Contudo, era de se esperar que a absorção do N mineral pelas plantas de milho fosse potencializada pela associação entre as doses de N em presença das plantas de cobertura, principalmente nos tratamentos com espécies leguminosas, por desconsiderar a ocorrência do processo de imobilização devido à baixa relação C/N dos resíduos vegetais. Scivittaro et al. (2003) relataram que o uso de mucuna-preta favoreceu a utilização do N fertilizante, possivelmente por contribuir para a redução das perdas de N no sistema solo/planta.

No ano agrícola 2015/16, Bettiol (2018), trabalhando com as amostras de solo coletadas na profundidade de 0-20 cm, obteve correlação significativa entre o N-DVD e o N absorvido pelas plantas. No presente trabalho optou-se pela análise das amostras na profundidade 0-10 cm porque esta camada tem mostrado efeitos mais pronunciados do sistema de manejo, particularmente nos acúmulos de MO e N total, e por ser ela a que mais sofre os efeitos da adubação de semeadura e em cobertura. É nesta camada que o material orgânico

depositado sobre e dentro do solo na última safra é mais intensamente trabalhado pela microbiota (Franzluebbers, 2020). Por isso, admitiu-se que a profundidade de amostragem de 0-10 cm poderia favorecer o desempenho dos métodos, o que não ocorreu. Uma justificativa para este resultado é que a camada de 0-20 cm é a de absorção mais ativa de nutrientes pelas raízes de milho, e na de 0-10 cm a absorção é menos eficiente por concentrar a zona mais madura da raiz (Hochholdinger et al., 2018).

Recentemente, profundidades maiores que 0-20 cm têm sido mencionadas para calibração do N-ISNT para prever o N-mineralizável em solos argilosos nos Estados Unidos, após o cultivo de arroz (Davidson et al., 2020) e milho (Roberts et al., 2009a). Esses autores afirmam que a partir dessa profundidade têm-se maior variação do N-mineralizável quantificável pelo método.

Embora haja divergências na literatura sobre qual a melhor profundidade de amostragem para avaliar o N potencialmente mineralizável, segundo St. Luce et al. (2011), a maior restrição dos métodos está em não conseguir simular a liberação de N, que está sujeita à grande variabilidade espacial e temporal em condições de campo. Por isso, os autores indicam a adoção de métodos de extração que consigam retratar as formas mais lábeis do N orgânico, aliada a dados de clima e outros índices de disponibilidade.

5. CONCLUSÕES

O N orgânico mineralizável extraído com soluções salinas diluídas, na maior parte das combinações planta de cobertura-milho, aumentou com o aumento das doses de N até cerca de 90 kg ha⁻¹, e diminuiu em seguida, até a dose de 180 kg ha⁻¹. O comportamento foi inverso com o uso de solução salina concentrada, indicando que a força da solução leva a extração de N de reservatórios diferentes.

O cultivo de espécies leguminosas em rotação com milho levou a maiores teores de N orgânico mineralizável, com maior sensibilidade dos extratores ISNT e DVD para este efeito.

Os métodos de extração avaliados não foram eficientes em prever o potencial de fornecimento de N do solo para o milho cultivado em rotação com

gramíneas e leguminosas, uma vez que não ocorreu correlação significativa entre N extraído do solo e N acumulado na parte aérea do milho.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acosta JAA, Amado TJC, Silva LSS, Santi A, Weber MA (2014) Decomposição da fitomassa de plantas de cobertura e liberação de nitrogênio em função da quantidade de resíduos aportada ao solo sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v.44, p.801-809.

Aita C, Giacomini SJ (2003) Decomposição e liberação de nitrogênio de resíduos culturais de plantas de cobertura de solo solteiras e consorciadas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, p. 601-612.

Albuquerque AW, Santos JR, Moura Filho G, Reis LS (2013). Plantas de cobertura e adubação nitrogenada na produção de milho em sistema de plantio direto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, p.721-726.

Alves VMC, Vasconcellos CA, Freire FM, Pitta GVE, França GE, Filho AR, Araújo JM, Vieira JR, Loureiro JE, Milho. In: Ribeiro A C, Guimarães PTG, Alvarez VVH (1999) **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (CFSEMG), p.314.

Amabile RF, Carvalho AM (2006) Histórico da adubação verde. In: Carvalho, A. M. de; Amabile, R. F. (Ed.). **Cerrado: adubação verde**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.23-40.

Amado TJC, Milniczuk J, Aita C (2002). Recomendação de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo, sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 26, p. 241-248.

Amorim SPDN, Boechat CL, Duarte LSL, Oliveira DF, Medeiros JC, Araujo AMS (2020). Microbial responses to doses of cover plant straw in cerrado piauiense oxisol. **Bioscience Journal**36.

Andrioli I, Centurion JF (1999) Levantamento detalhado dos solos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 27., Brasília, DF. **Resumos**: Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. CD-ROM.

Assis EPM, Cordeiro MAS, Paulino HB, Carneiro MAC (2003). Efeito da aplicação de nitrogênio na atividade microbiana e na decomposição da palhada de sorgo em solo de cerrado sob plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.33, p.107-112.

Azam F, Malik KA, Sajjad MI (1985) Transformations in soil and availability to plants of ^{15}N applied as inorganic fertilizer and legume residues. **Plant and Soil, The Hague**, v. 86, p. 3-13.

Barker DW, Sawyer JE, Al-Kaisi MM (2006) Assessment of the amino sugar-nitrogen test on Iowa soils: I. Evaluation of soil sampling and corn management practices. **Agronomy Journal, Madison**, v. 98, p. 1345-1351.

Bergamasco MAM, Braos LB, Lopes IG, Cruz MCP (2019) Nitrogen mineralization and nitrification in two soils with different pH levels. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 50, p. 2873-2880.

Bettiol ACT (2018) **Avaliação do nitrogênio orgânico mineralizável em solo cultivado com milho em sucessão a plantas de cobertura**. 52 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal.

Bertin, E. G., Andrioli, I., & Centurion, J. F. (2005). Plantas de cobertura em pré-safra ao milho em plantio direto. **Acta Scientiarum Agronomy**, 27(3).

Boer CA, Assis RL, Silva GP, Braz AJBP, Barroso ALDL, Cargnelutti Filho A, Pires FR (2007) Ciclagem de nutrientes por plantas de cobertura na entressafra em um solo de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 42, 1269–1276.

Borkert CM, Gaudêncio CA, Pereira JE (2003) Nutrientes minerais na biomassa da parte aérea em culturas de cobertura do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.143-153.

Braos BB, Ferreira ME, Cruz MCP, Braos LB, Barbosa JCt (2016) Mild and Moderate Extraction Methods to Assess Potentially Available Soil Organic Nitrogen. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 40, p. 151-159.

Braos BB (2012) **Extratores para nitrogênio disponível do solo**. 28 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal.

Bredemeier C, Mundstock CM (2000) Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, v. 30, p. 364-372.

Bushong JT, Roberts TL, Ross WJ, Norman RJ, Slaton NA, Wilson CE (2008) Evaluation of distillation and diffusion techniques for estimating hydrolyzable amino sugar-nitrogen as a means of predicting nitrogen mineralization. **Soil Science Society of America Journal**, v.72, p.992-999.

Calegari A (2014) Perspectivas e estratégias para sustentabilidade e o aumento da biodiversidade dos sistemas agrícolas com o uso de adubos verdes. In: Lima Filho OFL, Ambrosano EJ, Rossi F, Carlos JADC (ed). **Adubação Verde e Plantas de Cobertura no Brasil: fundamentos e práticas**. DF: Embrapa, v. 1, 507p.,

Camargo FAO, Gianello C, Vidor C (1997) Potencial de mineralização do nitrogênio em solos do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 21, p. 575-579.

Cantarella H, Mattod JrD, Raij BV, Lime effect on soil N availability indexes as measured by plant uptake. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 25, p. 989-1006, 1994.

Cantarella H Nitrogênio (2007) In: Novais RF, Alvarez VVH, Barros NF, Fontes RLF, Cantarutti RB, Neves, J.C.L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa: SBCS. 375-470 p.

Carvalho AM, BUSTAMANTE MMC, Almondes ZAP, Figueiredo CC (2014) Forms of phosphorus in an oxisol under different soil tillage systems and cover plants in rotation with maize. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.38, p.972- 979.

Carneiro WJO, Silva CA, Muniz JÁ, Savian T (2013) Mineralização de nitrogênio em Latossolos adubados com resíduos orgânicos. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 37, p. 715-725.

Carreiro MM, Sinsabaugh RL, Repert DA, Parkhurst DF (2000) Microbial enzyme shifts explain litter decay responses to simulated nitrogen deposition. **Ecology**, v.81, p.2359-2365.

Coelho AM (2006) **Nutrição e Adubação do Milho**. Circular técnica, n.78, p.1-10.

Corbo JZF (2019) **Métodos para a estimativa do nitrogênio disponível para plantas em resíduos orgânicos**. 86 f. Tese (Doutorado em Agricultura Tropical e Subtropical, Área de Concentração em Gestão de Recursos Agroambientais) "Instituto Agrônomo" Campinas-SP.

Davidson JT, Roberts TL, Hardke JT, Slaton NA, Fulford AM (2020) Comparison of soil sampling techniques for alkaline hydrolyzable-nitrogen on clay soils. *Agrosystems*, **Geociências e Meio Ambiente**, 3 (1).

Dijkstra FA, Hobbie SE, Knops JMH, Reich PB (2004) Nitrogen deposition and plant species interact to influence soil carbon stabilization. **Ecology Letters**, v.7, p.1192-1198.

Dourado-Neto D, Powlson D, Abu-Bakar R, Bacchi OOS, Basanta MV, Cong P, Keerthisinghe G, Ismaili M, Rahman SM, Reichardt K, Safwat MSA, Sangakkara R, Timm LC, Wang JY, Zagal E, Van Kessel C, (2010) Multiseason recoveries of organic and inorganic nitrogen-15 in tropical cropping systems. **Soil Science Society of America Journal**, v. 74, p. 139-152.

Drescher GL, Silva LS, Aita NT, Marques LG, Moraes AF, Busanello RL, Drescher MS (2016) Disponibilidade de nitrogênio para o arroz irrigado por inundação, pelo método de destilação a vapor direta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, p. 243-252.

Figueiredo CC, Resck DVS, Gomes AC, Urquiaga S (2005) Sistemas de manejo na absorção de nitrogênio pelo milho em um Latossolo Vermelho no Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 40:279-287.

Fitts JW, Bartholomew WV, Heidel H (1953) Correlation between nitrifiable nitrogen and yield response of corn to nitrogen fertilization on Iowa soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 17, p. 119-122.

Franzluebbers AJ (2020) Soil-test biological activity with the flush of CO₂: V. Validation of nitrogen prediction for corn production. **Agronomy Journal**. 112, 2188–2204.

Franco HCJ, Trivelin PCO, Faroni CEF, Vitti AC, Otto R (2008) Aproveitamento pela cana-de-açúcar da adubação nitrogenada de plantio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.2763-2770.

Gianello C, Bremner JM (1986) Comparison of chemical methods of assessing potentially available organic nitrogen in soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 17, p. 215-236.

Gianello C, Camargo FAO, Reichmann E, Tedesco M J (2000) Avaliação da disponibilidade do nitrogênio do solo estimada por métodos químicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 93-101.

Gonçalves CN, Ceretta CA, Basso CJ (2000) Sucessões de culturas com plantas de cobertura e milho em plantio direto e sua influência sobre o nitrogênio do solo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, 24:153-159.

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

Hochholdinger FYP, Marcon C (2018) Genetic Control of Root System Development in Maize. *Trends Plant Sci*.

Kappes C, Arf O, Andrade JAC (2013) Produtividade do milho em condições de diferentes manejos do solo e de doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.37, p.1310-1321.

Khan SA, Mulvaney RL, Hoeft RG (2001) A Simple Soil Test for detecting Sites that are Nonresponsive to Nitrogen Fertilization. **Soil Science Society of America Journal**, v. 65, p. 1751-1760.

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

Lara Cabezas WAR, Korndorfer GH, Motta SA (1997). Volatilização de N-NH₃ na cultura de milho: II. Avaliação de fontes sólidas e fluídas em sistema de plantio direto e convencional. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 21:489- 496.

Lara Cabezas WAR, Alves BJR, Urquiaga S, Santana DG (2004) Influência da cultura antecessora e da adubação nitrogenada na produtividade de milho em sistema plantio direto e solo preparado. **Ciência Rural**, 34:1005- 1013.

Leal AJF, Lazarini E, Rodrigues LR, Marcandalli LH (2013) Adubação nitrogenada para milho com o uso de plantas de cobertura e modos de aplicação de calcário. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.37, p.491-501.

Lobell DB (2007) The cost of uncertainty for nitrogen fertilizer management: A sensitivity analysis. **Field Crop Research**.

Mariano E, Otto R, Zaqueu F, Montezano H, Cantarella P, Trivelin CO (2017) Soil nitrogen availability indices as predictors of sugarcane nitrogen requirements. **European Journal of Agronomy**, v. 89, p. 25–37.

Martins RP, Comin JJ, Gatiboni LC, Soares CRF, Couto FR, Brunetto G (2014) Mineralização do nitrogênio de plantas de cobertura, solteiras e consorciadas, depositadas sobre um solo com histórico de cultivo de cebola. **Revista Ceres**, v. 61, p. 587-596.

Magalhães P C, Durães EOM (2006) **Fisiologia da produção de milho**. EMBRAPA (Circular Técnica 76). Sete Lagoas, 10 p.

Moro E, Crusciol CAC, Nascente AS, Cantarella H (2013) Teor de nitrogênio inorgânico no solo em função de plantas de cobertura, fontes de nitrogênio e inibidor de nitrificação. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, p. 424-435.

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

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

Mulvaney RL, Khan SA, Hoeft RG, Brown HM A (2001) soil organic nitrogen fraction that reduces the need for nitrogen fertilization. **Soil Science Society Americ Journal**. Am. J. 65:1164–1172.

Myrold D, Bottomley PJ (2008) Nitrogen mineralization and immobilization. In: Schepers JS, Raun WB, Follett RF, Fox RH, Randall GW (Eds.) Nitrogen in Agricultural Systems. Agronomy Monograph 49. **American Society of Agronomy**, Wisconsin, WI, pp. 157-172.

Nannipieri P, Eldor P (2009) The chemical and functional characterization of soil N and its biotic components. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 41, p. 2357-2369.

Nascente AS, Crusciol CAC, Cobucci T (2012) Ammonium and nitrate in soil and upland rice yield as affected by cover crops and their desiccation time. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 1699-1706.

Nascente AS, Kluthcouski J, Rabelo RR, Oliveira P, Cobucci T, Crusciol CAC (2011) Produtividade do arroz de terras altas em função do manejo do solo e da época de aplicação de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, p. 60-65.

Ohland RAA, Souza LCF, Hernam LC, Marchetti ME, Gonçalves MC (2005). Culturas de cobertura do solo e adubação nitrogenada no milho em plantio direto. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, p.538-544.

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

Otto R, Mariano E, Mulvaney RL, Khan SA, Boschiero BN, Tenelli S, Trivelin PC (2019) Effect of previous soil management on sugarcane response to nitrogen fertilization. **Scientia Agricola**, v. 76, p. 72-81.

Pacheco LP, Monteiro, Petter FA, Nóbrega JCA, Santos AS (2017) Produção de fitomassa e ciclagem de nutrientes por plantas de cobertura no Cerrado Piauiense. **Revista Caatinga**.

Padovan M, Motta I, Carneiro L, Moitinho M, Salomão G, Recalde K (2013) Pré-cultivo de adubos verdes ao milho em agroecossistema submetido a manejo ecológico no Cone Sul de Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Agroecologia**.

Parton WJ, Mosier AR, Ojima DS, Valentine DW, Schimel DS, Weier K, Kulmala AE (1996) Generalized model for N₂ and N₂O production from nitrification and denitrification. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 10, p. 401-412.

Prado, R. M. **Nutrição de plantas**. São Paulo: Editora Unesp, 407 p. 2008.

Praveen-Kumar, Tripathi KP, and R.K. Aggarwal (2002) Influence of crops, crop residues and manure on amino acid and amino sugar fractions of organic nitrogen in soil. **Biology and Fertility of Soils**. 35:210–213.

Raij BV (2017) **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute (IPNI), 420 p.

Raij BV, Cantarella H (1997) Milho para Grãos e Silagem. In: Raij B van, Cantarella H, Quaggio JÁ, Furlani AMC. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, p. 56-57. (Boletim Técnico 100).

Rambo L, Silva PRF, Argenta G, Sangoi L (2004) Parâmetros de planta para aprimorar o manejo da adubação nitrogenada de cobertura em milho. **Ciência Rural**, v.34, p.1637-1645.

Rodrigues GB, Sá ME, Valério Filho WV, Buzetti S, Bertolin DC, Pina TP (2012). Matéria e nutrientes da parte aérea de adubos verdes em cultivos exclusivo e consorciado. **Revista Ceres** 59, 380–385.

Ros GH, Temminghoff EJM, Hoffland E (2011) Nitrogen mineralization: a review and meta-analysis of the predictive value of soil tests. **European Journal of Soil Science**, v. 62, p. 162-173.

Ros GH, Hanegraaf MC, Hoffland E, Van Riemsdijk WH (2011) Predicting soil N mineralization: **Relevance of organic matter fractions and soil properties**.

Roberts TL, Norman RJ, Slaton NA, Wilson Jr CE, Ross WJ, Bushong JT (2009) Direct steam distillation as an alternative to the Illinois Soil Nitrogen Test. **Soil Science Society Americ Journal** J. v. 73, p. 1268-1275.

Roberts TL, Ross WJ, Norman RJ, Slaton NA, Wilson Jr CE (2011) Predicting nitrogen fertilizer needs for rice in Arkansas using alkaline hydrolysable-nitrogen. **Soil Science Society Americ Journal**, v. 75, p. 1161-1171.

Ruffo ML, Bollero GA, Bullock DS, Bullock DG (2006) Site-specific production functions for variable rate corn nitrogen fertilization. **Precision Agriculture**, Dordrecht, v. 7, p. 327–342.

Santos PA, Silva AF, Carvalho MAC, Caione G (2010) Adubos verdes e adubação nitrogenada em cobertura no cultivo do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.9, p.123-134.

Scivittaro WB, Muraoka T, Boaretto AE, Trivelin PCO (2003) Transformações do nitrogênio proveniente de mucuna-preta e uréia utilizados como adubo na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 1427-1433.

Sharifi M, Zebarth BJ, Burton DL, Grant CA, Cooper JM (2007) Evaluation of some indices of potentially mineralizable nitrogen in soil. **Soil Science Society of America Journal**, v.71, p.1233-1239.

Silva EC, Muraoka T, Buzetti S, Trivelin PCO (2006). Manejo de nitrogênio no milho sob plantio direto com diferentes plantas de cobertura, em Latossolo vermelho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.477-486.

Silva EC, Muraoka T, Villanueva FCA, Espinal FSC (2009). Aproveitamento de nitrogênio pelo milho, em razão da adubação verde, nitrogenada e fosfatada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.118-127.

Sommer SG, Schjoerring JK, Denmead OT (2004) Ammonia emission from mineral fertilizers and fertilized crops. **Advances in Agronomy**, v.82, p. 557-621.

Stevenson FJ (1996) Nitrogen – Organic forms . In: Sparks DL. Methods of Soil Analysis: Chemical Methods. Part 3. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p.1185-1200.

Steckler SJ, Pennock DJ, Walley FL (2008) Relationship of the Illinois soil nitrogen test to spring wheat yield and response to fertilizer nitrogen. **Can. J. Soil Science**. 88, 837–848.

St. Luce M, Whalen JK, Ziadi N, Zebarth B (2011) Chapter two – Nitrogen dynamics and indices to predict soil nitrogen supply in humid temperate soils. **Advances in Agronomy**, v. 112, p. 55-102.

Torres JLR, Pereira MG, Fabian AJ (2008) Produção de fitomassa por plantas de cobertura e mineralização de seus resíduos em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.3, p.421-428.

Uma MR, Mavukkandy MO, Adhikari U, Naddeo V, Sikder J, Arafat HÁ (2020) Synergistic effect of humic acid on alkali pretreatment of sugarcane bagasse for the recovery of lignin with phenomenal properties. **Biomass and Bioenergy**.

Vargas LK, Scholles D (1998) Nitrogênio da biomassa microbiana, em solo sob diferentes sistemas de manejo, estimado por métodos de fumigação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, p. 411-417, 1998.

Vargas LK, Selbach PA, Sá ELS (2005) Imobilização de nitrogênio em solo cultivado com milho em sucessão à aveia preta nos sistemas plantio direto e convencional. **Ciência Rural**, v. 35, p.76-83.

Velthof GL, Oenema O (2010) Estimation of plant-available nitrogen in soils using rapid chemical and biological methods. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.41, p.52-71.

Ward BB (2013) Nitrification. **Encyclopedia of Ecology**, v. 2, p. 351-358.

Wall DP, Weisz R, Crozier CR, Heiniger RW, White JG (2010) Variability of the Illinois Soil Nitrogen Test across Time and Sampling Depth. **Soil Science Society of America Journal** 74:2089–2100

Weber MA, Mielniczuk J. (2009) Estoque e disponibilidade de nitrogênio no solo em experimento de longa duração. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 33(2), 429–437.

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