UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
UNESP | BOTUCATU

DANILO SILVA ALMEIDA

DISPONIBILIDADE DE FÓSFORO E PRODUTIVIDADE DE SOJA EM ROTAÇÃO COM BRAQUIÁRIA RUZIZIENSIS

Botucatu

2018

DANILO SILVA ALMEIDA

DISPONIBILIDADE DE FÓSFORO E PRODUTIVIDADE DE SOJA EM ROTAÇÃO COM BRAQUIÁRIA RUZIZIENSIS

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Agricultura).

Orientador: Ciro Antonio Rosolem

Botucatu

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO – DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP – FCA – LAGEADO – BOTUCATU (SP)

Almeida, Danilo Silva, 1987-
A447d Disponibilidade de fósforo e produtividade de soja em rotação com braquiária ruziziensis / Danilo Silva Almeida. – Botucatu: [s.n.], 2018
148 p.: grafs., tabs.

Tese (Doutorado)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2018
Orientador: Ciro Antonio Rosolem
Inclui bibliografia

1. Soja - Rendimento. 2. Braquiária - Cultivo. 3. Rotação de cultivos. 4. Calorimetria. 5. Solos – Teor de fósforo. I. Rosolem, Ciro. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. III. Título.

Elaborada por Ana Lucia G. Kempinas – CRB-8:7310

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: DISPONIBILIDADE DE FÓSFORO E PRODUTIVIDADE DE SOJA EM ROTAÇÃO COM BRAQUIÁRIA RUZIZIENSIS

AUTOR: DANILO SILVA ALMEIDA
ORIENTADOR: CIRO ANTONIO ROSOLEM

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. CIRO ANTONIO ROSOLEM
Depto de Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciencias Agronomicas de Botucatu

PESQUISADOR ANDRÉ CESAR VITTI
Polo Regional Centro Sul de Piracicaba / APTA

Prof. Dr. VINÍCIUS DE MELO BENITES
Solos / Embrapa

Prof. Dr. RAFAEL OTTO
ESALQ / USP - Piracicaba/SP

Pesquisador ESTÊVÃO VICARI MELLIS
Centro de Solos e Recursos Agroambientais / Instituto Agronômico de Campinas, SP

Botucatu, 21 de maio de 2018

À minha família,

dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À minha mãe, Luisa Aparecida da Silva, por todo o amor e carinho que só uma mãe pode dar, sem isso nada mais teria importância.

À minha irmã, Daniella Silva Almeida, pela mais sincera amizade.

Ao meu pai, José Rosa de Almeida, por todo o respeito e admiração.

À Rubiana Falopa Rossi, minha fonte diária de inspiração.

Ao professor Ciro Antonio Rosolem por toda a confiança depositada em meu trabalho, fundamental em todos os passos dessa jornada.

Aos meus amigos e companheiros de trabalho, Murilo de Souza, Kassiano Felipe Rocha, Lucas Benes Delai, Gustavo Henrique de Menezes Bacco e Gustavo Prestes Gomes por todo o compromisso e por nunca terem negado esforços na realização deste e de muitos outros trabalhos.

Ao Leontino de Oliveira Neto, Juan Piero Antonio Raphael, João Paulo Rigon, Cleiton José Alves, Jayme Ferrari Neto, Claudio Hideo Martins da Costa, Antonio Carlos de Almeida Carmeis Filho, Mauricio Antonio Cuzato Mancuso e Júlio Maia, pelo apoio na realização deste e de muitos outros trabalhos.

Aos alunos de graduação da Faculdade de Ciências Agronômicas, Fábio Henrique de Barros, Mateus Loureiro, Luiz Guilherme Sendon e Lucas André Curto Donini, e ao Vagner Grade e Taís Gabriele Garmus da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, por todo auxílio.

Aos alunos de pós-graduação em Agronomia (Agricultura) por todo o respeito e amizade.

À todos os professores e funcionários do departamento de Produção e Melhoramento Vegetal, em especial, ao Dorival Pires de Arruda e Casimiro Edson Alves por todo o suporte na execução deste trabalho, Dirceu Ferreira de Jesus e José Roberto Carnieto, e aos demais funcionários da Faculdade de Ciências Agronômicas.

Ao Thiago Marcelo Ribeiro Gianeti pela disposição e amizade.

Aos meus amigos Frederico Márcio Corrêa Vieira e Alexandre Espírito Santo que me inspiraram para este universo acadêmico.

Aos meus familiares, que sempre estiveram torcendo por mim.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e participaram em mais esta etapa da minha vida.

Aos membros da comissão examinadora dessa tese de doutorado: Vinicius de Melo Benites, Rafael Otto, André Cesar Vitti e Estêvão Vicari Mellis, por toda a atenção e disponibilidade na participação da minha defesa.

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

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro, concedido por meio de bolsa de doutorado (Processo nº 2014/23707-5) e de bolsa estágio de pesquisa no exterior (Processo nº 2015/22095-9).

Muito obrigado.

My special words of thanks should also go to all the friends I have made abroad.

To Chad J. Penn, for his friendship and support and for investigating the most complicated data of this study.

To Daniel Menezes-Blackburn, for his care and enthusiasm to conduce all these studies as a ‘hobby’.

To Professor Philip M. Haygarth, for his encouragement, tea-breaks, and for greeting me.

To Professor Hao Zhang, for her support on DGT analysis.

To Benjamin L. Turner, for his valuable comments on this research.

I am very grateful to all those who have given me their friendship and support during this journey, especially Reeves Murray, James Mckinley, and Cory Anderson, who

provided a great stay in the US; and Orla Myers, Sophie Guinard, Melinda Nagy, and Barbara Szabova, the best housemates of all time.

To Isobel Riley, Alice Nogueira Raymundo, and Priscila Ronchetti, the best English teachers I have ever had, and to Monica Rosolem for correcting my papers.

To the editors and reviewers of the Agronomy Journal, Geoderma, Biology and Fertility of Soil, and Geoderma for all the corrections in the published papers, related to Chapters 1, 2, 3, and 4 of this thesis, respectively.

To the CSA news, the official magazine for members of the American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America, for promoting our paper "Soil Phosphorus Bioavailability and Soybean Grain Yield Impaired by Ruzigrass," related to Chapter 1 of this thesis.

To the International Plant Nutrition Institute (IPNI) for the 2017 Scholar Award conferred upon me, among other 36 students developing projects in sciences relevant to plant nutrition and management of crop nutrients, from 20 countries around the world.

Thank you so much

"There is no darkness but the ignorance"

William Shakespeare

RESUMO

O cultivo de braquiária ruziziensis (*Urochloa ruziziensis*) em sistemas de rotação de culturas tem sido sugerido como uma estratégia para aumentar a ciclagem e disponibilidade de fósforo no solo. Foi avaliado um experimento de longa duração em Botucatu/SP, Brasil, em que a braquiária tem sido cultivada na entressafra de soja (*Glycine max*) desde 2006, com a aplicação de 0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5. Inicialmente, foi testada a hipótese de que o cultivo de braquiária durante a entressafra pode aumentar a disponibilidade de fósforo no solo. A concentração de fósforo no solo extraído com resina foi maior no solo após a braquiária do que no solo com pousio. Surpreendentemente, o teor foliar de fósforo e a produtividade da soja foram menores após a braquiária do que após pousio. Em função dos resultados observados no primeiro capítulo deste estudo, foi conduzido um experimento com o objetivo de mensurar as frações de fósforo disponíveis para plantas de milho (*Zea mays*) cultivadas após a braquiária, e avaliar a adsorção e dessorção de fósforo no solo. Amostras de solo do experimento de campo foram coletadas para condução de um experimento em vaso, especialmente para possibilitar uma adequada amostragem de raízes de milho. Novamente, a concentração de fósforo extraído com resina não teve correlação com a resposta das plantas. Por meio da calorimetria de titulação isotérmica foi possível verificar uma menor dessorção e maior adsorção de fósforo no solo cultivado com braquiária do que no solo mantido em pousio, possivelmente devido ao acúmulo de fósforo orgânico e maior interação da matéria orgânica no solo com os óxidos de ferro e alumínio. Uma vez que o acúmulo de fósforo orgânico pode resultar em menor disponibilidade de fósforo no solo, um terceiro estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar o fósforo orgânico no solo cultivado com braquiária, principalmente o *mio*-inositol hexafosfato, considerado uma das formas menos disponíveis de fósforo no solo. O *mio*-inositol hexafosfato foi separado com cromatografia líquida de alta performance após oxidação dos extratos de solo com hipobromito. A braquiária resultou em menor concentração de *mio*-inositol hexafosfato no solo do que o pousio; apesar disso, o menor acúmulo deste composto não é suficiente para evitar a menor disponibilidade de fósforo no solo. A falta de correlação do fósforo extraído com resina e a resposta das plantas em rotação com braquiária estimulou a condução de uma pesquisa, apresentada no Capítulo 4, com o objetivo de avaliar a cinética de dessorção do fósforo. Por meio do método de gradiente de difusão de fósforo em finas membranas, foi possível observar que o cultivo de braquiária resulta em menor disponibilidade de fósforo devido à redução da mobilidade e menor ressuprimento do fósforo da fase sólida para a solução do solo, o que por sua vez ajuda a explicar como é difícil estimar a disponibilidade de fósforo com os métodos usuais de extração de fósforo, que não levam em consideração estes fatores determinantes da disponibilidade de fósforo. A persistência destes resultados é um indicativo de que não é possível obter aumento da disponibilidade de fósforo no solo com o cultivo de braquiária ruziziensis.

Palavras-chave: *Urochloa ruziziensis*. Pousio. Calorimetria de titulação isotérmica. *mio*-Inositol hexafosfato. Gradiente de difusão em finas membranas.

ABSTRACT

Growing ruzigrass (*Urochloa ruziziensis*) in crop rotation systems has been suggested as a strategy to increase soil phosphorus cycling and phosphorus availability. A long-term field experiment was evaluated, in which ruzigrass has been grown during soybean (*Glycine max*) off-season since 2006, with the application of 0, 13, and 26 kg ha^{-1} of phosphorus. Initially, the hypothesis that growing ruzigrass during the off-season can increase soil phosphorus availability to soybean was tested. Soil phosphorus extracted with resin was higher after ruzigrass than fallow. Surprisingly, soybean leaf phosphorus concentration and grain yield were lower after ruzigrass compared with fallow. Due to the results observed in the first chapter of this study, another experiment was conducted with the objective to measure the forms of soil phosphorus available to maize (*Zea mays*) plants in soil previously cultivated with ruzigrass and evaluate phosphorus adsorption-desorption. Soil samples were taken from the field experiment for a greenhouse experiment, especially to allow for precise rhizosphere soil sampling. Once more, soil phosphorus extracted with resin had no correlation to plants response. A lower phosphorus desorption and higher phosphorus adsorption after growing ruzigrass than in soil kept fallow was observed through isothermal titration calorimetry, possibly due to increased soil organic matter, which resulted in the formation of metal phytate and more effective organo-metal sites for ligand exchange. Once the organic phosphorus accumulation may result in lower soil phosphorus availability, a third study was done with the objective to access the effect of long-term soybean-ruzigrass rotation on the dynamics of soil organic phosphorus, mainly the *myo*-inositol hexakisphosphate, considered as one of the most recalcitrant organic phosphorus forms in the soil. *myo*-Inositol hexakisphosphate was determined by high performance liquid chromatography separation after hypobromite oxidation. Interestingly, *myo*-inositol hexakisphosphate concentration is reduced by growing ruzigrass compared with fallow; despite this, the lower accumulation of this recalcitrant organic compost is not enough to avoid a lower soil phosphorus availability in soil. The lower correlation of phosphorus extracted with resin and the response of plants in rotation with ruzigrass encouraged the conduction of a study, presented in Chapter 4, with the objective to evaluate the phosphorus desorption kinetics. Using the diffusive gradient in thin films method, a lower phosphorus availability was observed in soil with ruzigrass than under fallow, due to a decrease in phosphorus mobility and phosphorus resupply from soil solid phase into soil solution, which in turns helps to explain how is difficult to estimate the phosphorus availability with usual methods that does not take in account these determinant factors of phosphorus availability. The persistence of these results is an indicative that is not possible to improve soil phosphorus availability growing ruzigrass.

Keywords: *Urochloa ruziziensis*. Fallow. Isothermal titration calorimetry. *mio*-Inositol hexakisphosphate. Diffusive gradient in thin films.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Temperatura máxima média ($T_{máxima}$) e mínima média ($T_{mínima}$), e precipitação mensal desde a entressafra de soja em 2012 até o final da safra de soja em 2016. 35

Figura 2 – Matéria orgânica do solo em quatro profundidades do solo (0–5, 5–10, 10–20 e 20–40 cm) em função do cultivo de braquiária ruziziensis ou pousio durante a entressafra de soja em 2012, 2013, 2014 e 2015. Médias seguidas por letras diferentes são significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$), para cada profundidade de solo.....40

Figura 3 – Concentração de fósforo (P) extraído com resina (P_{resina}) nas camadas de 0–5 cm (a) e 0–20 cm (b), em função do cultivo de braquiária na entressafra e aplicação de P. Médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes entre si (Tukey, $p < 0.05$). Letras maiúsculas comparam o solo cultivado com braquiária ruziziensis e o solo em pousio, e letras minúsculas comparam a aplicação de P.....66

Figura 4 – Frações de fósforo (P) no solo na camada de 0–5 cm de profundidade, em função do cultivo com braquiária ruziziensis ou pousio (a), e de acordo com a aplicação de P (b). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Tukey, $p < 0,05$), para cada fração. 67

Figura 5 – Termogramas obtidos com a titulação de ácido cítrico (0,001 mol L^{-1}) em solo cultivado com braquiária ruziziensis sem aplicação de P (a), mantido em pousio sem aplicação de P (c), cultivado com braquiária com aplicação de P (e), e mantido em pousio com aplicação de P (g). Curvas de calor obtidas com a integração dos termogramas estão apresentadas ao lado direito de seus respectivos termogramas em b, d, f e h. 69

Figura 6 – Dessorção/dissolução acumulada de fósforo, ferro, alumínio e cálcio versus o calor acumulado de acordo com a titulação com citrato (0,001 mol L^{-1}) em função do cultivo de braquiária ruziziensis ou pousio, em solo sem aplicação de fósforo. 70

Figura 7 – Termograma obtido com a titulação de ácido cítrico (0,001 mol L^{-1}) em solução de cloreto de alumínio ($AlCl_3$) 0,1 mmol L^{-1} (a), e curva de calor obtida pela integração do termograma (b). 71

Figura 8 – Termograma obtido com a titulação de ácido cítrico (0,001 mol L^{-1}) em areia enriquecida com alumínio (Al) (a), e curva de calor obtida pela integração do termograma (b).....71

Figura 9 – Termograma obtido com a titulação de ácido cítrico (0,001 mol L^{-1}) em areia enriquecida com alumínio (Al) e fósforo (P) (a), e curva de calor obtida pela integração do termograma (b).....71

Figura 10 – Termogramas obtidos com a titulação de fosfato monossódico (0,01 mol L^{-1}) em solo cultivado com braquiária sem aplicação de P (a), mantido em pousio sem aplicação de P (c), cultivado com braquiária ruziziensis com aplicação de P (e), e mantido em pousio com aplicação de P (g). Curvas de calor obtidas com a integração

dos termogramas estão apresentadas ao lado direito de seus respectivos termogramas em b, d, f e h. 73

Figura 11 – Diferença na concentração de fósforo (ΔP) entre as frações de P no solo da rizosfera do milho e o solo antes do cultivo do milho, em função do cultivo de braquiária ruziziensis e aplicação de P. Teor de P extraído com resina de troca aniônica (RTA) (a), P total (b), e P orgânico (c), extraídos com hidróxido de sódio 0,1 mol L^{-1} (NaOH 0,1). Médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes entre si (Tukey, $p < 0.05$). Letras maiúsculas comparam o solo cultivado com braquiária e o solo em pousio, e letras minúsculas comparam a aplicação de P. 75

Figura 12 – Diferença na concentração de fósforo (ΔP) entre as frações de P no solo da rizosfera do milho e o solo antes do cultivo do milho, em função do cultivo de braquiária ruziziensis e aplicação de P. Fósforo total (P_t), inorgânico (P_i) e orgânico (P_o) extraídos com bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$), fração lábil de P representada pela soma das frações de P extraídas com resina de troca aniônica (RTA) e $NaHCO_3$ (RTA + $NaHCO_3$), e P_i extraído com hidróxido de sódio 0,5 mol L^{-1} (NaOH 0,5) (a). Fósforo inorgânico extraído com NaOH 0,1 mol L^{-1} (NaOH 0,1), P extraído com ácido clorídrico (HCl), P residual e P total obtido com a soma de todas as frações (b). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Tukey, $p < 0,05$), para cada fração. 76

Figura 13 – Produtividade de braquiária ruziziensis no final do período de entressafra em 2014 e 2015, em função da aplicação de fósforo (P). Letras diferentes indicam diferenças significantes entre tratamentos de acordo com o teste t de Student ($p < 0,05$)..... 97

Figura 14 – Análise de especiação do fósforo (P) do solo por meio de HPLC após a extração com hidróxido de sódio e ácido etilenodiamino tetra-acético (NaOH-EDTA) e oxidação com hipobromito, e uma amostra de padrão formulado com ortofosfato e *mio*-inositol hexafosfato. Com detalhe para a presença de P inorgânico, P orgânico de inositóis fosfatos não identificados e *mio*-inositol hexafosfato no solo. 101

Figura 15 – Concentração efetiva de fósforo (P_E) no solo em função do cultivo de braquiária ruziziensis ou pousio e doses de P (0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5) em quatro profundidades do solo, em 2014 e 2105. A contribuição da fase líquida do solo (P_{DET}) e a fase sólida do solo (P_E-P_{DET}) estão destacadas em cinza claro e cinza escuro, respectivamente. As barras de erro representam o erro padrão. 123

Figura 16 – Razão R de acordo com o tempo em quatro profundidades do solo em função do cultivo de braquiária ruziziensis ou pousio e doses de P (0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5), em 2014 e 2015. 129

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características químicas e distribuição de partículas do solo em diferentes profundidades antes da implantação do experimento, em 1998 (Esteves, 2004). 34

Tabela 2– Produtividade de matéria seca, teor de fósforo (P), e acúmulo de P na parte aérea de braquiária ruziziensis, em função do efeito residual de diferentes doses de P (0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5) aplicadas na semeadura da soja. Dados coletados no final da entressafra de 2012, 2013, 2014 e 2015. 39

Tabela 3 – Fósforo (P) extraível por resina (P_{resina}) em três profundidades do solo (0–5, 5–10 e 10–20 cm) em função do cultivo de braquiária ruziziensis ou pousio durante a entressafra de soja e doses de P (0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5), em 2012, 2013, 2014 e 2015. 41

Tabela 4 – Teor de fósforo (P) e nitrogênio (N) nas folhas de soja em função do cultivo de braquiária ruziziensis ou pousio durante a entressafra de soja e doses de P (0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5) aplicadas na semeadura da soja, nas safras 2012/2013, 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. 43

Tabela 5 – Produtividade de grãos, teor de P nos grãos e exportação de P pelos grãos de soja em função do cultivo de braquiária ruziziensis ou pousio durante a entressafra de soja e doses de P (0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5) aplicadas na semeadura da soja, nas safras 2012/2013, 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. 45

Tabela 6 – Características químicas do solo em diferentes profundidades antes da implantação do experimento em 1998 (Esteves, 2004). 61

Tabela 7 – Peso de matéria seca de parte aérea, raiz e total de plantas de milho aos 35 dias após a emergência, em função do cultivo de braquiária ruziziensis na entressafra e teor de P no solo. 74

Tabela 8 – Características químicas do solo em quatro profundidades de acordo com a aplicação dos tratamentos com e sem aplicação de P, em 2014. 94

Tabela 9 – Concentração de matéria orgânica em três profundidades do solo, em função do cultivo de braquiária ruziziensis durante a entressafra de soja e aplicação de fósforo (P), em 2014 e 2015. 97

Tabela 10 – Concentração de fósforo (P) total, orgânico e lábil por fitase extraídos com hidróxido de sódio e ácido etilenodiamino tetra-acético (NaOH-EDTA), em três profundidades do solo, em função do cultivo de braquiária ruziziensis durante a entressafra de soja e aplicação de P, em 2014 e 2015. 99

Tabela 11 – Concentração de fósforo (P) lábil por fitase em solo extraído com hidróxido de sódio e ácido etilenodiamino tetra-acético (NaOH-EDTA) antes e após a oxidação com hipobromito, na profundidade de 0–10 cm do solo, em função do cultivo de braquiária ruziziensis durante a entressafra de soja e aplicação de P, em 2014 e 2015. 100

Tabela 12 – Concentração de fósforo (P) inorgânico, inositóis fosfatos não identificados, *mio*-inositol hexafosfato e porcentagem de *mio*-inositol hexafosfato com relação ao P total (P_t) na profundidade de 0–10 cm do solo, em função do cultivo de braquiária ruziziensis durante a entressafra de soja e aplicação de P, em 2014 e 2015. Dados obtidos com cromatografia líquida de alta performance (HPLC) usando extratos de solo oxidados com hipobromito. 102

Tabela 13 – Características químicas do solo, em quatro profundidades, para cada tratamento, com braquiária ruziziensis ou pousio, e com 0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5, em 2014 e 2015. 116

Tabela 14 – Concentração de P na solução do solo (P_{DET}) e concentração efetiva de P (P_E) em quatro profundidades do solo em função do cultivo de braquiária ruziziensis e doses de P, em 2014 e 2015. 121

Tabela 15 – Concentração de fósforo (P) na interface do solo e do dispositivo DGT (P_{DGT}) e potencial de ressuprimento de P (K_d) em quatro profundidades do solo em função do cultivo de braquiária ruziziensis e doses de P, em 2014 e 2015. 125

Tabela 16 – Razão (R) entre a concentração do P_{DGT} e P_{DET}, e o suprimento relativo da fase sólida do solo ($R\text{-}R_{dif}$) em quatro profundidades do solo em função do cultivo de braquiária ruziziensis e doses de P, em 2014 e 2015. 127

Tabela 17 – Tempo de resposta do sistema (T_c) e constante de dessorção (K_{-1}) em quatro profundidades do solo em função do cultivo de braquiária ruziziensis e doses de P, em 2014 e 2015. 131

Tabela 18 – Concentração de fósforo na biomassa microbiana ($P_{microbiano}$) em quatro profundidades do solo em função do cultivo de braquiária ruziziensis e doses de P, em 2014 e 2015. 133

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AO	Ânions de ácidos orgânicos
CTC	Capacidade de troca de cátions
DET	Equilíbrio de difusão em finas membranas (diffusive equilibrium in thin films)
DGT	Gradiente de difusão em finas membranas (diffusive gradient in thin films)
DIFS	Modelo matemático de fluxo induzido por gradiente de difusão em finas membranas no solo e em sedimentos (DGT induced fluxes in soils and sediments model)
FBN	Fixação biológica de nitrogênio
H+Al	Acidez potencial.
ICP-AES	Espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma indutivamente acoplado
ITC	Calorimetria de titulação isotérmica (isothermal titration calorimetry)
K_{-1}	Constante da taxa de dessorção
K_d	Coeficiente de partição entre o fósforo da fase sólida e da fase líquida do solo
MOS	Matéria orgânica do solo
P_{DET}	Concentração de fósforo em equilíbrio com a solução do solo
P_{DGT}	Concentração de fósforo na interface do solo e do dispositivo DGT
P_E	Concentração efetiva de fósforo
P-HCl	Fósforo extraído com ácido clorídrico
P_i	Fósforo inorgânico
P_i-$NaHCO_3$	Fósforo inorgânico extraído com bicarbonato de sódio
P_i-NaOH 0,1	Fósforo inorgânico extraído com hidróxido de sódio 0,1 mol L^{-1}
P_i-NaOH 0,5	Fósforo inorgânico extraído com hidróxido de sódio 0,5 mol L^{-1}
$P_{lábil\text{-}fitase}$	Fósforo lábil por fitase
$P_{microbiano}$	Fósforo na biomassa microbiana

P_o	Fósforo orgânico
P_o-$NaHCO_3$	Fósforo orgânico extraído com bicarbonato de sódio
P_o-NaOH 0,1	Fósforo orgânico extraído com hidróxido de sódio 0,1 mol L^{-1}
P_o-NaOH 0,5	Fósforo orgânico extraído com hidróxido de sódio 0,5 mol L^{-1}
P-residual	Fósforo residual extraído na última etapa da extração sequencial de fósforo
P_{resina}	Fósforo extraído com resina
P-RTA	Fósforo extraível com lâminas de resina de troca aniônica na
P_t-$NaHCO_3$	Fósforo total (inorgânico + orgânico) extraído com bicarbonato de sódio
P_t-NaOH 0,1	Fósforo total (inorgânico + orgânico) extraído com hidróxido de sódio 0,1 mol L^{-1}
P_t-NaOH 0,5	Fósforo total (inorgânico + orgânico) extraído com hidróxido de sódio 0,5 mol L^{-1}
P-Total	Fósforo total obtido com a soma de todas as frações de fósforo extraídas na extração sequencial de fósforo
R	Razão entre P_{DGT} e P_{DET}
R_{dif}	Razão entre o P_{DGT} e o P_{DET} que considera apenas o suprimento de fósforo do solo para o dispositivo DGT por meio da difusão
R-R_{dif}	Suprimento relativo de fósforo apenas pela fase sólida do solo
SSD	Sistema semeadura direta
T_c	Tempo levado pelas fases sólida e líquida do solo alcançarem 63% do equilíbrio após a concentração da solução ser esgotada à zero
ΔP	Delta ou diferença entre dois valores de concentração de fósforo

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL 25

CAPÍTULO 1 – DISPONIBILIDADE DE FÓSFORO NO SOLO E PRODUTIVIDADE DE SOJA APÓS O CULTIVO DE BRAQUIÁRIA RUZIZIENSIS 31

1.1 Introdução 33

1.2 Material e métodos 34

1.2.1 Caracterização da área experimental e tratamentos 34

1.2.2 Condução do experimento 36

1.2.3 Análise química do solo 36

1.2.4 Análise do material vegetal 37

1.2.5 Análise estatística 38

1.3 Resultados 38

1.3.1 Braquiária ruziziensis 38

1.3.2 Análise de solo 40

1.3.3 Cultura da soja 42

1.4 Discussão 46

1.4.1 Cultivo da braquiária ruziziensis na entressafra de soja 46

1.4.2 Efeito da braquiária ruziziensis na disponibilidade de fósforo no solo 47

1.5 Conclusão 51

REFERÊNCIAS 52

CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DA DISPONIBILIDADE DE FÓSFORO EM SOLO CULTIVADO COM BRAQUIÁRIA RUZIZIENSIS 57

2.1 Introdução 59

2.2 Material e métodos 60

2.2.1 Fracionamento químico do fósforo no solo 61

2.2.2 Calorimetria de titulação isotérmica 63

2.2.3 Experimento em casa de vegetação 64

2.2.4 Análise estatística 65

2.3 Resultados 66

2.3.1 Análise inicial do solo 66

2.3.2 Dessorção do fósforo no solo 68

2.3.3 Adsorção do fósforo no solo 72

2.3.4 Cultivo do milho 74

2.3.5 Solo rizosférico 75

2.4 Discussão 77

2.4.1 Acúmulo de fósforo no milho e indicadores da labilidade de fósforo 77

2.4.2 O uso do ITC na avaliação da disponibilidade de fósforo no solo 78
2.4.3 Mudanças nos sítios de fósforo no solo com o cultivo de milho 82
2.5 Conclusões 83
REFERÊNCIAS 84
CAPÍTULO 3 – CICLAGEM DE INOSITOL FOSFATOS COM O CULTIVO DE BRAQUIÁRIA RUZIZIENSIS 89
3.1 Introdução 91
3.2 Material e métodos 93
3.2.1 Caracterização da área experimental e tratamentos 93
3.2.2 Extração do fósforo do solo 94
3.2.3 Fósforo lábil por fitase 95
3.2.4 Oxidação com hipobromito 95
3.2.5 Especiação do fósforo 96
3.2.6 Análise estatística 96
3.3 Resultados 97
3.4 Discussão 102
3.5 Conclusão 106
REFERÊNCIAS 107
CAPÍTULO 4 – CINÉTICA DO FÓSFORO NO SOLO APÓS O CULTIVO DE BRAQUIÁRIA RUZIZIENSIS 111
4.1 Introdução 113
4.2 Material e métodos 115
4.2.1 Caracterização da área experimental e tratamentos 115
4.2.2 Caracterização química do solo 115
4.2.3 Gradiente de difusão e equilíbrio de difusão em finas membranas 116
4.2.4 Fósforo na biomassa microbiana 119
4.2.5 Análise estatística 119
4.3 Resultados 120
4.3.1 Gradiente de difusão e equilíbrio de difusão em finas membranas 120
4.3.2 Parâmetros calculados com o modelo DIFS 130
4.3.3 Fósforo na biomassa microbiana 132
4.4 Discussão 134
4.5 Conclusão 138
REFERÊNCIAS 139
CONSIDERAÇÕES FINAIS 143
REFERÊNCIAS 145

INTRODUÇÃO GERAL

A baixa disponibilidade de fósforo (P) é um importante fator limitante da produtividade dos cultivos em solos tropicais altamente intemperizados e tipicamente pobres em P (Juo e Franzluebbers, 2003). A região tropical corresponde por mais de 30% dos solos da superfície terrestre, e os Latossolos estão presentes em mais de dois terços dessa área (Richter e Babbar, 1991). Os principais processos que controlam a disponibilidade de P inorgânico (P_i) nesses solos são a interação com óxidos amorfos e cristalinos de ferro (Fe) e de alumínio (Al), e a mineralização do P orgânico (P_o). A alta adsorção do P na fase sólida do solo resulta em baixa biodisponibilidade, que consequentemente gera uma necessidade de aplicação de fertilizantes fosfatados em quantidades maiores do que as demandadas pelas plantas. Isso é importante considerando-se o fato de que as fontes de P usadas na agricultura são principalmente obtidas de rochas fosfatadas, um recurso limitado, tanto em quantidade quanto em distribuição geográfica (Godfray et al., 2010; Macdonald et al., 2011; Dodd e Sharpley, 2015). Porém, a taxa e extensão em que ocorrem os processos que controlam a disponibilidade de P nos solos agrícolas podem ser afetadas pelas práticas de uso e manejo do solo (Sharpley, 1995).

Uma forma de tornar o P mais disponível é por meio da rotação com culturas de cobertura, que geralmente tem sido usada para proteger a superfície do solo contra erosão e aumentar a matéria orgânica do solo (MOS), mas que também são geralmente mais eficientes na absorção e ciclagem de P do que as culturas comerciais (Calegari et al., 2013; Merlin et al., 2015). Desta forma, é essencial a identificação de espécies com maior potencial de absorver e ciclar o P do solo. De acordo com Miyasaka e Habte (2001), os mecanismos das plantas que aumentam a eficiência de aquisição de P podem ser divididos em: 1) aqueles que aumentam a extensão de exploração do solo; 2) aqueles que aumentam a taxa de absorção de P; 3) aqueles que aumentam a solubilidade do P adsorvido ou precipitado; e 4) aqueles que aumentam a interação simbiótica com microorganismos.

Algumas espécies são capazes de utilizar o P moderadamente lábil e armazenar este na parte aérea. Por exemplo, aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.) e nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) resultam em menores teores de P moderadamente lábil, e a ervilhaca (*Vicia sativa* L.) resulta em menor teor de P não lábil no solo (Teles et al., 2017). Efeito similar tem sido observado em solo cultivado

com braquiária ruziziensis [*Urochloa ruziziensis* (R. Germ. e C.M. Evrard) Morrone e Zuloaga] na entressafra de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] (Merlin et al., 2013). Espécies do gênero Urochloa (syn. Brachiaria) têm sido amplamente adotadas em sistemas de rotação de culturas no Brasil. A braquiária ruziziensis tem sido preferencialmente adotada devido às suas características favoráveis tanto para pastagens como para o uso em sistemas de rotação de culturas, permitindo seu uso também em sistemas de integração lavoura-pecuária. De acordo com Boddey et al. (1996), a braquiária ruziziensis é bem adaptada a solos de baixa fertilidade, ricos em Al e com pH baixo. A braquiária ruziziensis é tolerante à baixa disponibilidade de P no solo devido a sua alta eficiência de aquisição de P. Dentro deste contexto um experimento de longa duração com o sistema de rotação soja-braquiária foi alvo deste estudo, sendo abordado no Capítulo 1 com a hipótese de que a rotação com braquiária pode resultar em aumento da disponibilidade de P no solo por meio da ciclagem deste nutriente.

Em função dos resultados observados no Capítulo 1, em que a disponibilidade de P foi reduzida após o cultivo de braquiária, uma série de novas hipóteses foram levantadas, sugerindo cada vez mais que o efeito da rotação com espécies de cobertura na disponibilidade de P no solo ainda não é um processo completamente elucidado, pois depende da interação de diversos fatores, como o teor de P no solo, espécie cultivada, e processos de mineralização e imobilização (Fuentes et al., 2008; Damon et al., 2014). Por exemplo, a sucessiva deposição de resíduos de plantas na superfície do solo, junto com os resíduos de raízes, resulta também no acúmulo de P_o (Merlin et al., 2014; Dodd e Sharpley, 2015), afetando a disponibilidade de P_i. Outros estudos também reportaram a redução da disponibilidade de P após o cultivo de plantas de cobertura. Teles et al. (2017) observaram a redução de P extraído com resina em solo cultivado com ervilhaca, nabo forrageiro, azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) e aveia preta em comparação com tremoço branco (*Lupinus albus* L.). O esgotamento de P_i lábil (extraído pela resina e $NaHCO_3$) também tem sido observado na rizosfera de mucuna [*Mucuna pruriens* (L.) DC.], lab-lab [*Lablab purpureus* (L.) Sweet], feijão-guandu [*Cajanus cajan* (L.) Millsp], e milho (*Zea mays* L.) (Horst et al., 2001). A extração de P em profundidade por culturas de cobertura pode reduzir a disponibilidade para culturas subsequentes, além disso, a deposição do P fica localizada na superfície do solo no sistema semeadura direta (SSD) (Machado e Silva, 2001; Calegari et al., 2013), reduzindo a absorção de P pelas raízes em maiores profundidades. O acúmulo de P na superfície do solo também favorece as perdas de

P por escorrimento superficial, o que pode ocasionar graves problemas ambientais (Abdi et al., 2014).

Além da menor disponibilidade de P no solo cultivado com braquiária, observou-se uma falta de correlação da análise de P extraído com resina e o teor de P nas plantas de soja no capítulo 1, o que estimulou o uso de outros métodos de análise de P não só para estimar o P disponível com mais acurácia, mas também para identificar os mecanismos por trás da baixa disponibilidade de P no solo cultivado com braquiária. Nessa busca da elucidação do efeito do cultivo de braquiária na disponibilidade de P e de um planejamento com uso eficiente do P, é fundamental entender os mecanismos de sorção de P no solo.

No geral, a liberação do P no solo desencadeada pela ação de raízes é rápida nas primeiras horas, mas é desacelerada até que um equilíbrio seja alcançado. De acordo com Evans e Jurinak (1976), a rápida, intermediária, e lenta dessorção de P no solo são atribuídas à reação de dissolução de fosfatos de cálcio (Ca) pouco cristalinos, dessorção de P de minerais de argila e carbonatos, e dissolução de hidroxiapatitas, respectivamente. Além da quantidade de P armazenado no solo, a quantidade de P solúvel no tempo é largamente dependente da taxa de liberação do P pelas partículas do solo. A importância da taxa de liberação de P no solo para a disponibilidade de P para diferentes culturas tem sido reportada em estudos sobre a labilidade de P no solo (Okajima et al., 1983; Raven e Hossner, 1994). A labilidade ou disponibilidade de P no solo é definida como a possibilidade do P mudar de estado, e comumente refere-se ao processo de dessorção de P da superfície das partículas induzidas pelo esgotamento de P na solução do solo (Menezes-Blackburn et al., 2016b).

A grande variedade de formas de P no solo e a grande variação da solubilidade destas, dificultam bastante a quantificação do P considerável disponível para as plantas por meio da análise de solo (Beegle, 2005). O equilíbrio dos processos de precipitação e dissolução que governa a solubilidade dos minerais de P está sobre a direta dependência do pH, da concentração de P e dos metais catiônicos no solo. Contudo, devido ao efeito de diversos fatores e processos que podem afetar a precipitação de fosfatos, é difícil prever o equilíbrio de precipitação e dissolução de fosfatos (Hinsinger, 2001). A técnica de calorimetria de titulação isotérmica (isothermal titration calorimetry – ITC) tem sido utilizada para distinguir os mecanismos de sorção de P (Penn e Warren, 2009; Penn e Zhang, 2010), e apesar de ser uma técnica pouco

explorada para estimar a biodisponibilidade de P, pode ser interessante na busca de uma nova perspectiva sobre a dinâmica do P no solo, assim como o observado no segundo capítulo deste estudo. A partir da interpretação dos resultados observados no segundo capítulo, foi possível direcionar as pesquisas sobre a disponibilidade de P no sistema de rotação com braquiária em dois novos estudos, um para abordar a dinâmica de P_o no solo e outro para abordar a dinâmica da dessorção e mobilidade do P no solo. No Capítulo 3 está apresentado um estudo realizado para avaliar as espécies de P_o no solo cultivado com braquiária, especialmente o *mio*-inositol hexafosfato, que é considerado uma das formas mais recalcitrantes de P no solo (Shang et al., 1996; Martin et al., 2004). Já no Capítulo 4 é apresentado um estudo conduzido para testar a hipótese de que a cinética de dessorção de P no solo pode ser menor após o cultivo de braquiária, levando em conta os fatores que controlam o movimento do P em direção às raízes, o que pode ser mais eficaz na estimativa da disponibilidade de P do que os métodos usuais de extração de P do solo.

Estimativas confiáveis da disponibilidade de P são raras usando métodos de extração devido à complexidade da química e mineralogia do solo. A disponibilidade de P existe como um contínuo, e a identificação de compostos de P ou frações por meio de extrações de acordo com a sua labilidade é difícil. Por exemplo, no meio científico é usual a extração sequencial de P com o uso de resina, seguida pelas soluções de bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$), hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol L^{-1}, ácido clorídrico (HCl), NaOH 0,5 mol L^{-1}, e finalizando com a digestão do solo para extração do P residual. De acordo com Cross e Schlesinger (1995) e Guo e Yost (1998), as frações de P extraídas com resina e $NaHCO_3$ são consideradas prontamente disponíveis. Porém, dependendo do tipo de solo, as frações extraídas por resina, $NaHCO_3$, NaOH (0,1 mol L^{-1}), também são consideradas disponíveis, e o P residual, extraído na digestão do solo pode até mesmo ser moderadamente disponível (Guo e Yost, 1998).

Outra limitação dos métodos de análise de P é que o mecanismo de suprimento de P determinante da disponibilidade de P no solo para as plantas por meio da grande maioria das extrações químicas é geralmente desconhecido. Uma análise de solo ideal deve medir a forma de P que é disponível para as plantas, de acordo com difusão na solução do solo e o ressuprimento do P pela fase sólida do solo, independentemente do tipo de solo (Marschner e Rengel, 2012). O método da resina tem sido reportado como um avanço nos métodos de extração de P no solo (Raij et

al., 1986; Raij, 1998; Raij et al., 2009), assim como o uso de gradientes de difusão em finas membranas (diffusive gradiente in thin films - DGT) (Degryse et al., 2009; Mason et al., 2010; Burkitt et al., 2016; Menezes-Blackburn et al., 2016b). Este avanço se deve ao mecanismo de extração de P utilizado por esses métodos, que imita a absorção de P pelas plantas. Os métodos da resina e DGT reduzem a concentração de P na fase solúvel, promovendo o reabastecimento de P pela fase sólida do solo. Contudo, o método da resina utiliza uma grande relação solo:solução, e o solo é agitado, podendo resultar na liberação de P retido no interior de micro partículas, normalmente indisponíveis para as plantas, resultando em baixa correlação dos resultados desse método com o acúmulo de P e produtividade das plantas (Mason et al., 2008; Mason et al., 2013). Já no método DGT, o solo é mantido, no máximo, em até 100% da capacidade de retenção de água, e o dispositivo DGT é colocado diretamente sobre o solo sem agitação. Dessa forma, as medidas obtidas por meio do uso desse método refletem o suprimento de P da solução do solo de acordo com os processos de difusão e ressuprimento de P pela fase sólida do solo (Zhang et al., 1998; Mason et al., 2010). A estimativa da disponibilidade de P no solo, levando em consideração a cinética de dessorção do P, e sem o uso de extratores em relações solo:solução não realísticas, têm sido responsáveis por altas correlações com a produção de várias culturas (Mason et al., 2010; Tandy et al., 2011; Six et al., 2013; Heidari et al., 2017).

No presente estudo a disponibilidade de P no solo cultivado com braquiária é discutida de uma forma bastante ampla, sendo necessário a divisão deste trabalho em 4 capítulos. A persistência dos resultados de menor produtividade e teor foliar de P na cultura da soja em rotação com braquiária e a baixa correlação com o teor de P no solo extraído por resina apontados no primeiro capítulo foram fundamentais para estimular a busca por explicações para este caso. A longa extensão deste trabalho reflete o interesse em não só determinar se a disponibilidade de P no solo pode ser aumentada com a rotação com braquiária ruziziensis, mas também esclarecer os efeitos desta rotação na disponibilidade do P. Os resultados aqui apresentados revelam novas perspectivas sobre a dinâmica do P de uma forma bastante original por meio de um conjunto de métodos complementares, permitindo alcançar uma compreensão holística da disponibilidade de P no solo.

CAPÍTULO 1 – DISPONIBILIDADE DE FÓSFORO NO SOLO E PRODUTIVIDADE DE SOJA APÓS O CULTIVO DE BRAQUIÁRIA RUZIZIENSIS

Resumo

A rotação de culturas com espécies adaptadas aos solos pobres em fósforo pode elevar a disponibilidade de fósforo por meio da ciclagem, em sistema semeadura direta. Um aumento na concentração de fósforo extraível com resina tem sido reportado após o cultivo de braquiária ruziziensis (*Urochloa ruziziensis*) como cultura de cobertura. Porém, não está claro como é a resposta das culturas em sucessão à braquiária no longo prazo. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de longo prazo do cultivo de braquiária ruziziensis na disponibilidade de fósforo para soja (*Glycine max*). As avaliações foram realizadas durante cinco anos em um sistema de rotação soja-braquiária, em Botucatu/SP, Brasil. Os tratamentos foram doses de fósforo (0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5) aplicadas no sulco de semeadura da soja, e braquiária ou pousio durante a entressafra. A amostragem de solo foi realizada após a dessecação da braquiária, e o fósforo do solo foi extraído com resina. O uso da braquiária resultou em aumento de aproximadamente 20% da concentração de matéria orgânica do solo, independentemente das doses de fósforo, e aumentou cerca de 10% a concentração de fósforo até 10 cm de profundidade do solo com a aplicação de 60 kg ha^{-1} de P_2O_5, em comparação com o pousio. Surpreendentemente, a produtividade de grãos e teor foliar de fósforo da soja foram menores após a braquiária do que após o pousio. O teste da resina parece ser inadequado para comparar a biodisponibilidade de fósforo entre diferentes sistemas de cultivo. A longo-prazo, o cultivo de braquiária como cultura de cobertura na entressafra resultou em menor disponibilidade de fósforo e nitrogênio para a soja, eventualmente reduzindo a produtividade de grãos. Novos estudos são necessários para elucidar os mecanismos envolvidos nesta resposta inesperada do cultivo de soja em rotação com braquiária.

Este primeiro capítulo está publicado no Agronomy Journal (ISSN: 1435-0645), disponível em: https://dx.doi.org/10.2134/agronj2017.08.0451, e será citado nos próximos capítulos como: Almeida et al. (2018b).

1.1 Introdução

O manejo conservacionista com mínimo revolvimento do solo, como o sistema semeadura direta (SSD), tem sido largamente adotado para prevenir a erosão do solo e reduzir os custos de produção. Ultimamente, importantes efeitos do SSD na química e fertilidade do solo têm sido reconhecidos, especialmente tratando-se da disponibilidade de fósforo (P) no solo. A falta de revolvimento do solo resulta em estratificação química de nutrientes pouco móveis no perfil do solo, como o P (Pavinato et al., 2009), e o contato do P com os sítios de adsorção são reduzidos (Rosolem e Almeida, 2014). Em conjunto com as culturas de cobertura, o SSD em longo prazo também resulta em acúmulo de matéria orgânica do solo (MOS) nas camadas mais próximas da superfície do solo em comparação com o sistema convencional de preparo do solo (Corbeels et al., 2006), melhorando a agregação, porosidade, taxa de infiltração (Castro Filho et al., 2002), e atividade biológica no solo (Lienhard et al., 2012). As melhorias físicas favorecem o crescimento de raízes e exploração de P no perfil do solo (Rosolem e Pivetta, 2017). Ácidos húmicos e fúlvicos, e ânions de ácidos orgânicos (AO) de baixo peso molecular podem competir com o P pelos sítios de adsorção e complexar metais como o Fe e Al, reduzindo os sítios de adsorção disponíveis para a fixação do P (Hu et al., 2005). O aumento de MOS aumenta a quantidade de cargas negativas nas superfícies das partículas do solo, reduzindo a adsorção de P (Easterwood e Sartain, 1990). Além disso, a disponibilidade de P nos solos sob sistema semeadura direta pode simplesmente aumentar devido à liberação de P das culturas de cobertura e da MOS (Guppy et al., 2005).

O uso de culturas de cobertura adaptadas aos solos pobres em P, como o tremoço-branco (*Lupinus albus* L.), tem sido proposto como uma ferramenta para elevar a ciclagem de P (Braum e Helmke, 1995). Contudo, sob clima tropical com inverno seco, poucas espécies são capazes de produzir matéria vegetal suficiente para proteger o solo, quando cultivadas durante o período de entressafra das culturas comerciais. Gramíneas tropicais do gênero Urochloa (syn. Brachiairia) estão sendo cada vez mais cultivadas como culturas de cobertura durante a entressafra de diversas culturas, como soja, milho e algodão (Calonego e Rosolem, 2013; Nascente et al., 2013; Rosolem e Pivetta, 2017) devido à alta adaptação às condições edafoclimáticas dos trópicos. Recentemente, aumentos na disponibilidade de P, determinados pelo método da resina (Raij et al., 1986), têm sido atribuídos ao cultivo

de braquiária ruziziensis [*Urochloa ruziziensis* (R. Germ. e C.M. Evrard) Morrone e Zuloaga] como cultura de cobertura em SSD (Merlin et al., 2013). De acordo com Begum et al. (2006), as gramíneas do gênero Urochloa são bem adaptadas aos solos pobres em P devido ao seu grande sistema radicular e a sua alta eficiência de absorção e uso do P. A braquiária ruziziensis pode solubilizar e absorver o P recalcitrante ligado ao Fe, Al (Merlin et al., 2015) e ao Ca (Rosolem et al., 2014), mas isto não tem sido reportado em experimentos de longa-duração em campo.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de longo prazo da rotação soja-braquiária ruziziensis, especificamente para testar a hipótese de que o cultivo de braquiária ruziziensis durante a entressafra pode aumentar a disponibilidade de P no solo para a soja e consequentemente aumentar a produtividade de grãos de soja.

1.2 Material e métodos

1.2.1 Caracterização da área experimental e tratamentos

As avaliações foram realizadas entre os anos de 2012 e 2016 em um experimento de longa duração sob SSD desde 1998 em Botucatu, São Paulo, Brasil (22°50′00″ S; 48°25′31″ O; 806 m de altitude). O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho distroférrico (Santos et al., 2006), de textura média, com relevo plano a suave ondulado, e com boa drenagem. A caracterização química do solo está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Características químicas e distribuição de partículas do solo em diferentes profundidades antes da implantação do experimento, em 1998 (Esteves, 2004).

Profundidade	pH[a]	MOS[b]	P_{resina}[c]	H+Al[d]	K	Ca	Mg	CTC[e]	Areia[f]	Argila[f]
cm		g dm^{-3}	mg dm^{-3}	---------- mmol$_c$ dm^{-3} ----------					---- g kg^{-1} ----	
0–5	5,2	21	18	27	2,7	21	13	64	770	210
5–10	5,1	18	16	28	0,7	17	11	57	770	220
10–20	4,6	19	5	34	0,6	8	6	48	770	220
20–40	4,0	18	3	45	0,7	5	3	54	730	250

[a] pH do solo em solução de cloreto de cálcio.
[b] Matéria orgânica do solo estimada de acordo com o teor de carbono do solo.
[c] Fósforo extraído com resina.
[d] Acidez potencial.
[e] Capacidade de troca de cátions.
[f] Tamanho de partículas definido de acordo com Claessen et al. (1997).

O clima da região é caracterizado como mesotérmico úmido e do tipo Cwa segundo classificação de Köppen, com um período seco durante o outono e inverno, e período quente e chuvoso durante a primavera e verão (Cepagri, 2016). Os dados de temperatura e precipitação durante este estudo foram coletados em uma estação meteorológica localizada à 600 m da área experimental (Figura 1).

A área selecionada para o experimento não foi cultivada por vários anos antes de 1998. De 1998 até 2005, todas as parcelas receberam um total de 220 kg ha^{-1} de P_2O_5 na forma de superfosfato triplo (SFT), e foi cultivado soja sob SSD durante o verão em rotação com aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.) e triticale (x *Triticosecale* Witt.) durante o outono/inverno, e milheto [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] na primavera. O atual experimento foi iniciado em 2006, e os tratamentos foram as aplicações de 0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 na linha de semeadura da soja na forma de SFT, e cultivo de braquiária ruziziensis ou pousio durante a entressafra de soja. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições, no esquema fatorial 2 × 3. As parcelas tiveram as seguintes medidas: 8 m de comprimento × 5 m de largura.

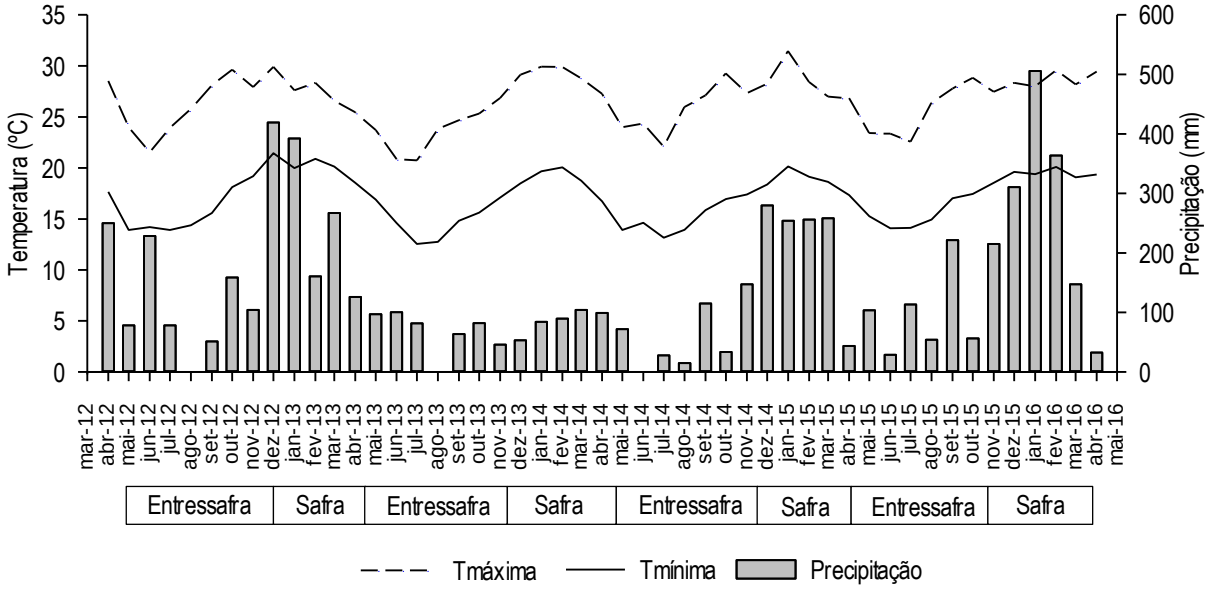

Figura 1 – Temperatura máxima média ($T_{máxima}$) e mínima média ($T_{mínima}$), e precipitação mensal desde a entressafra de soja em 2012 até o final da safra de soja em 2016.

1.2.2 Condução do experimento

A braquiária foi semeada logo após a colheita da soja, em abril de 2012, 2013, 2014 e 2015. Devido às baixas temperaturas em 2012, a germinação foi muito lenta, e a braquiária foi novamente semeada em setembro de 2012, quando as temperaturas e precipitação estavam apropriadas. Foram semeados 10 kg ha^{-1} de sementes de braquiária com 70% de germinação e 99% de pureza, para obter uma população final de aproximadamente 250 mil plantas ha^{-1}. Não houve aplicação de fertilizantes no cultivo de braquiária. Houve crescimento de plantas daninhas nas parcelas em pousio durante a entressafra, com o predomínio de capim-favorito [*Rhynchelytrum repens* (Willd.) C.E. Hubb.], capim-carrapicho (*Cenchrus echinatus* L.), macela (*Gnaphalium spicatum* Lam.), e trapoeraba (*Commelina benghalensis* L.). Porém, o crescimento de plantas daninhas foi aleatório e esparso, com insignificante produção de biomassa até o fim do período de entressafra, quando foi aplicado glifosato (1.44 kg ha^{-1} de ingrediente ativo) em todas as parcelas em outubro/novembro de 2012, 2013, 2014 e 2015.

A soja foi semeada pelo menos 10 dias após a dessecação da braquiária. As parcelas foram compostas por 10 linhas de soja espaçadas a 45 cm entre si. Foram utilizados os cultivares M7211 RR (Monsoy, São Paulo, Brasil), e BMX Potência RR (GDM Genética do Brasil S.A., Cambé, Brasil), em 2012 e 2013, respectivamente. Em 2014 e 2015, foi usado o cultivar TMG 7062 IPRO (Tropical Melhoramento & Genética, Cambé, Brasil). As sementes de soja foram inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum*, e foi aplicado potássio (K) na linha de semeadura da soja na dose de 60 kg ha^{-1} de K_2O, na forma de cloreto de potássio, de acordo com Raij et al. (1997). A soja foi colhida aos 131, 149, 126 e 128 dias após a semeadura, em 2013, 2014, 2015 e 2016, respectivamente.

1.2.3 Análise química do solo

Foram coletadas 6 amostras de solo aleatoriamente em cada parcela pouco antes do cultivo da soja, nas profundidades de 0–5, 5–10, 10–20 e 20–40 cm, usando uma sonda com 50 mm de diâmetro, e foram combinadas em uma única amostra por profundidade por repetição experimental. As amostras de solo foram secas ao ar e peneiradas em peneira de malha de 2 mm para posterior análise química. O pH do solo em solução de 0,01 mol L^{-1} de cloreto de cálcio (1:2,5, solo/solução), acidez potencial (H+Al) no pH 7, capacidade de troca de cátions (CTC), e matéria orgânica

do solo (MOS) foram determinados de acordo com Raij et al. (2001). O P disponível (P_{resina}), assim como Ca, Mg, e K, foram extraídos usando o método da resina de acordo com Raij et al. (1986). As concentrações de K, Ca, e Mg foram determinadas usando um espectrômetro de absorção atômica, modelo AAS7000 (Shimadzu Scientific Instruments, Kyoto, Japão), e as concentrações de P foram determinadas em espectrofotômetro, modelo 600S (FEMTO, São Paulo, Brasil).

1.2.4 Análise do material vegetal

Amostras da parte aérea de braquiária foram coletadas pouco antes da dessecação e foram determinadas a produtividade de matéria seca, concentração e acúmulo de P. Foram coletadas 4 sub-amostras aleatoriamente em cada parcela, utilizando um quadro de ferro de 50 × 50 cm, sendo combinadas em uma amostra por parcela. As amostras foram secas em estufa de aeração forçada a 60ºC por 72 h, e pesadas em seguida. Para a análise química, sub-amostras de 30 g foram moídas em moinho do tipo Wiley. O resto do material amostrado foi retornado para suas respectivas parcelas no campo. Não houve amostragem de plantas nas parcelas mantidas em pousio durante a entressafra de soja, uma vez que a vegetação espontânea nestas parcelas foi muito pouca e esparsa.

Quando o desenvolvimento da soja alcançou o estágio fenológico R2 (Fehr et al., 1971), 30 folhas do terceiro nó de cima para baixo foram coletadas por parcela, secas em estufa de aeração forçada a 60ºC, e moídas para análise de diagnose foliar (Malavolta et al., 1997). A soja foi colhida em faixas de 6 m das 3 linhas centrais. O teor de água foi determinado e a produtividade foi calculada em kg ha^{-1}, com correção da umidade dos grãos para 13%. Sub-amostras de grãos foram moídas em moinho do tipo Wiley para determinação da concentração de P. Todo o material vegetal amostrado foi submetido à digestão nitro-perclórica (HNO_3 + $HClO_4$, na proporção 2:1, v/v) (Malavolta et al., 1997). A concentração de P foi determinada usando o método vanadato-molibdato (Jackson, 1973), e as concentrações de K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, e Zn nas folhas de soja foram determinados usando um espectrômetro de absorção atômica. O N total nas folhas de soja foi determinado com o uso de digestão ácida e destilação, de acordo com o descrito por Malavolta et al. (1997).

1.2.5 Análise estatística

Os dados obtidos em cada ano e em cada camada de solo foram analisados separadamente. Os dados de solo e planta foram submetidos à análise de homogeneidade de variância usando teste de Levene. Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p < 0,05$), considerando o delineamento em blocos casualizados com quatro repetições, no esquema fatorial 2 × 3, e as médias foram comparadas usando o teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o software SAS, versão 9.4 (SAS Inst., Carolina do Norte, EUA).

1.3 Resultados

1.3.1 Braquiária ruziziensis

Um atraso na colheita de soja em 2012 resultou em uma semeadura tardia da braquiária. A germinação das sementes de braquiária foi prejudicada pelas baixas temperaturas no final de abril e início de maio de 2012, e uma nova semeadura foi realizada em setembro. Portanto, a produtividade da braquiária em 2012 foi baixa quando comparada com os anos seguintes (Tabela 2). Na entressafra de 2013, 2014 e 2015, a produtividade da braquiária, concentração de P na parte aérea, e acúmulo de P foram maiores quando houve aplicação de 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 do que quando não houve aplicação de P.

Tabela 2– Produtividade de matéria seca, teor de fósforo (P), e acúmulo de P na parte aérea de braquiária ruziziensis, em função do efeito residual de diferentes doses de P (0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5) aplicadas na semeadura da soja. Dados coletados no final da entressafra de 2012, 2013, 2014 e 2015.

Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)		
0	30	60
2012		
----- Produtividade (kg ha^{-1}) -----		
1482 ^{ns}	1418 ^{ns}	1468 ^{ns}
--------- Teor de P (g kg^{-1}) ---------		
1,46 b[a]	1,69 ab	1,79 a
------ Acúmulo de P (kg ha^{-1}) ------		
2,16 ^{ns}	2,40 ^{ns}	2,63 ^{ns}
2013		
----- Produtividade (kg ha^{-1}) -----		
4718 b	6687 a	6928 a
--------- Teor de P (g kg^{-1}) ---------		
0,83 b	0,86 ab	1,12 a
------ Acúmulo de P (kg ha^{-1}) ------		
4,03 b	5,90 ab	7,74 a
2014		
----- Produtividade (kg ha^{-1}) -----		
2558 b	3729 ab	4431 a
--------- Teor de P (g kg^{-1}) ---------		
1,22 b	1,44 ab	1,75 a
------ Acúmulo de P (kg ha^{-1}) ------		
3,04 b	5,34 ab	7,69 a
2015		
----- Produtividade (kg ha^{-1}) -----		
5548 b	7978 ab	10191 a
--------- Teor de P (g kg^{-1}) ---------		
0,89 b	1,41 ab	1,77 a
------ Acúmulo de P (kg ha^{-1}) ------		
4,97 b	11,24 a	18,1 a

[ns] Não significativo.
[a] Médias seguidas por letras diferentes na linha são significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$).

1.3.2 Análise de solo

A braquiária e as doses de P não tiveram efeito no pH, H+Al e CTC, independentemente da profundidade do solo, em nenhum dos anos avaliados. O acúmulo de MOS na camada superficial do solo foi observado, tanto no pousio quanto após a braquiária (Figura 2). Contudo, a concentração de MOS foi maior após a braquiária do que após o pousio em até 10 cm de profundidade, em 2012 e 2013. Em 2014 e 2015, a MOS foi maior após a braquiária do que após o pousio até na camada de 10–20 cm de profundidade do solo.

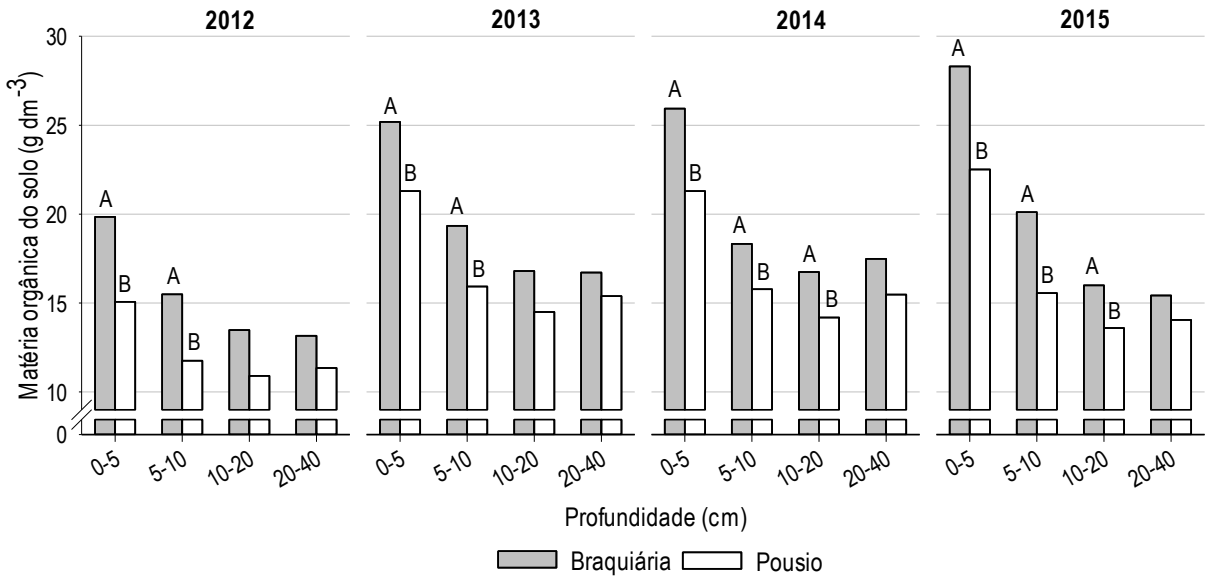

Figura 2 – Matéria orgânica do solo em quatro profundidades do solo (0–5, 5–10, 10–20 e 20–40 cm) em função do cultivo de braquiária ruziziensis ou pousio durante a entressafra de soja em 2012, 2013, 2014 e 2015. Médias seguidas por letras diferentes são significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$), para cada profundidade de solo.

Após a entressafra de 2012, a concentração de P_{resina} foi maior após a braquiária do que após o pousio em até 20 cm de profundidade, quando 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 foram aplicados (Tabela 3). Na camada de 20–40 cm do solo não houve efeito do cultivo de braquiária ou doses de P no teor de P_{resina}, sendo observada uma média de 3,3 mg dm^{-3}.

Após a entressafra de 2013 e 2014, o teor de P_{resina} foi maior após o cultivo de braquiária do que após o pousio na camada de 5–10 cm, apenas quando houve aplicação de 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 (Tabela 3). Não houve efeito de nenhum dos tratamentos na profundidade de 20–40 cm do solo, e a média do P_{resina} foi 3,5 e 3,0 mg dm^{-3} após as entressafras de 2013 e 2014, respectivamente.

Tabela 3 – Fósforo (P) extraível por resina (P_{resina}) em três profundidades do solo (0–5, 5–10 e 10–20 cm) em função do cultivo de braquiária ruziziensis ou pousio durante a entressafra de soja e doses de P (0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5), em 2012, 2013, 2014 e 2015.

Entressafra	Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)			Média	Entressafra	Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)			Média
	0	30	60			0	30	60	
	---------- P_{resina} (mg dm^{-3}) ----------								
		2012					2013		
		0–5 cm					0–5 cm		
Braquiária	14,8 Ab[a]	29,5 Aa	32,4 Aa	25,6	Braquiária	12,5	18,4	20,4	17,1 [ns]
Pousio	21,1 Aa	25,9 Aa	21,0 Ba	22,7	Pousio	14,7	17,9	20,6	17,7 [ns]
Média	18,0	27,7	26,7		Média	13,6 c	18,1 b	20,5 a	
		5–10 cm					5–10 cm		
Braquiária	5,8 Ac	14,3 Ab	26,2 Aa	15,4	Braquiária	6,4 Ac	11,9 Ab	18,5 Aa	12,3
Pousio	8,9 Aa	10,6 Aa	10,0 Ba	9,8	Pousio	7,3 Ab	16,7 Aa	12,8 Ba	12,3
Média	7,4	12,4	18,1		Média	6,9	14,3	15,6	
		10–20 cm					10–20 cm		
Braquiária	5,1 Ab	8,3 Aa	8,6 Aa	7,3	Braquiária	4,6	9,7	6,6	6,9 [ns]
Pousio	5,3 Ab	7,4 Aa	6,6 Bab	6,4	Pousio	6,1	8,6	10,1	8,2 [ns]
Média	5,2	7,9	7,6		Média	5,3 b	9,1 a	8,3 a	
		2014					2015		
		0–5 cm					0–5 cm		
Braquiária	13,4	18,5	26,4	19,4 [ns]	Braquiária	12,9 Ac	22,1 Ab	31,8 Aa	22,3
Pousio	14,8	17,9	26,3	19,7 [ns]	Pousio	15,4 Ab	19,7 Aab	23,7 Ba	19,6
Média	14,1 b	18,2 b	26,4 a		Média	14,1	20,9	27,8	
		5–10 cm					5–10 cm		
Braquiária	5,0 Ab	7,2 Ab	17,8 Aa	10,0	Braquiária	7,6 Ab	7,7 Ab	27,2 Aa	14,2
Pousio	5,4 Ab	9,4 Ab	13,1 Ba	9,3	Pousio	7,0 Ab	9,7 Ab	20,1 Ba	12,3
Média	5,2	8,3	15,5		Média	7,3	8,7	23,7	
		10–20 cm					10–20 cm		
Braquiária	6,0	4,6	6,5	5,7 [ns]	Braquiária	7,0	5,7	13,9	8,9 [ns]
Pousio	4,7	5,7	7,3	5,9 [ns]	Pousio	7,7	4,2	8,3	6,7 [ns]
Média	5,3 [ns]	5,1 [ns]	6,9 [ns]		Média	7,4 ab	4,9 b	11,1 a	

[a] Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha e maiúsculas na coluna são significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$).
[ns] Não significativo.

Ao final da entressafra de 2015, a braquiária resultou em maior teor de P extraído pela resina do que o pousio nas camadas de 0–5 e 5–10 cm de profundidade do solo quando 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 foram aplicados na soja (Tabela 3). O teor de P_{resina} não foi afetado pelo cultivo de braquiária ou doses de P na camada de 20–40 cm, sendo observado uma média de 3,0 mg dm^{-3}.

1.3.3 Cultura da soja

A produção de soja foi severamente prejudicada pela falta de chuvas na safra 2013/2014, e o ciclo da cultura foi atrasado por cerca de 20 dias. Enquanto que a precipitação total durante o ciclo da soja nas safras 2012/2013, 2014/2015 e 2015/2016 foi de 1306, 1062 e 1570 mm, respectivamente, apenas 404 mm de precipitação foram registrados na safra 2013/2014 (Figura 1).

O teor de P nas folhas de soja foi maior com a aplicação de P, mas foi menor após o cultivo de braquiária do que pousio nas safras 2012/2013, 2014/2015 e 2015/2016 (Tabela 4). Nas duas últimas safras, as diferenças entre braquiária e pousio foram significativas apenas com aplicação de 60 kg ha^{-1} de P_2O_5. Não foram observadas diferenças significativas para a concentração de outros nutrientes nas folhas de soja, em função do cultivo de braquiária ou aplicação de P. A concentração de macronutrientes teve uma média de 20,4, 8,4 e 4,1 g kg^{-1} para K, Ca e Mg, respectivamente; e a concentração média de micronutrientes foi de 11,9, 42,2, 49,7 e 152,8 mg kg^{-1} para Cu, Zn, Mn e Fe, respectivamente. Contudo, o cultivo de braquiária resultou em menor teor de N nas folhas de soja. Nas safras 2012/2013 e 2013/2014, o teor de N nas folhas de soja foi menor após a braquiária do que o pousio independentemente das doses de P aplicadas, mas na safra 2014/2015 e 2015/2016, a diferença foi significativa apenas quando 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 foram aplicados (Tabela 4).

Tabela 4 – Teor de fósforo (P) e nitrogênio (N) nas folhas de soja em função do cultivo de braquiária ruziziensis ou pousio durante a entressafra de soja e doses de P (0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5) aplicadas na semeadura da soja, nas safras 2012/2013, 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016.

Entressafra	Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)			Média
	0	30	60	
	---------- Teor de P nas folhas de soja (g kg^{-1}) ----------			
		2012/2013		
Braquiária	1,91	2,05	2,39	2,12 B[a]
Pousio	2,13	2,31	2,57	2,33 A
Média	2,02 b	2,18 b	2,48 a	
		2013/2014		
Braquiária	1,82	2,08	2,40	2,10 [ns]
Pousio	1,73	2,02	2,46	2,07 [ns]
Média	1,77 c	2,05 b	2,43 a	
		2014/2015		
Braquiária	2,06 Ac	2,55 Ab	2,90 Ba	2,50
Pousio	2,15 Ac	2,39 Ab	3,12 Aa	2,55
Média	2,11	2,47	3,01	
		2015/2016		
Braquiária	1,71 Ab	2,10 Aab	2,13 Ba	1,98
Pousio	1,64 Ab	1,92 Ab	2,50 Aa	2,02
Média	1,67	2,01	2,32	
	---------- Teor de N nas folhas de soja (g kg^{-1}) ----------			
		2012/2013		
Braquiária	42,6	42,9	47,1	44,2 B
Pousio	47,1	46,3	50,1	47,8 A
Média	44,9 [ns]	44,6 [ns]	48,6 [ns]	
		2013/2014		
Braquiária	35,6	35,6	38,8	36,7 B
Pousio	36,3	38,9	42,1	39,1 A
Média	36,0 b	37,2 b	40,4 a	
		2014/2015		
Braquiária	46,1 Aa	41,3 Aa	39,9 Ba	42,4
Pousio	43,3 Aa	44,1 Aa	47,8 Aa	45,1
Média	44,7	42,7	43,8	
		2015/2016		
Braquiária	37,6 Aa	37,9 Aa	37,5 Ba	37,7
Pousio	36,0 Ab	39,0 Aab	41,1 Aa	38,7
Média	36,8	38,5	39,3	

[a] Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha e maiúsculas na coluna são significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$).
[ns] Não significativo.

O cultivo de braquiária como cultura de cobertura resultou em menor produtividade de grãos de soja em comparação com o pousio nas safras 2012/2013, 2013/2014 e 2014/2015, independentemente das doses de P aplicadas, e na safra 2015/2016, apenas quando 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 foram aplicados (Tabela 5). Contudo, o teor de P nos grãos de soja não foi afetado pelo cultivo de braquiária nas safras 2012/2013, 2013/2014 e 2014/2015, mas na safra 2015/2016 foi maior após o cultivo de braquiária do que após o pousio, e a exportação de P pelos grãos de soja foi ligeiramente maior após o pousio do que após a braquiária. Tanto a produtividade de grãos de soja quanto a concentração de P nos grãos foram maiores com a aplicação de P. Consequentemente, a exportação de P foi maior com a aplicação de 60 kg ha^{-1} de P_2O_5.

Tabela 5 – Produtividade de grãos, teor de P nos grãos e exportação de P pelos grãos de soja em função do cultivo de braquiária ruziziensis ou pousio durante a entressafra de soja e doses de P (0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5) aplicadas na semeadura da soja, nas safras 2012/2013, 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016.

Entressafra	Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)			Média	Entressafra	Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)			Média
	0	30	60			0	30	60	
	2012/2013					2013/2014			
---------- Produtividade de grãos (kg ha^{-1}) ----------					---------- Produtividade de grãos (kg ha^{-1}) ----------				
Braquiária	2074	2463	2705	2414 B[a]	Braquiária	960	1473	1602	1345 B
Pousio	2364	2685	3147	2732 A	Pousio	1201	1559	1719	1493 A
Média	2219 c	2574 b	2926 a		Média	1081 b	1516 a	1661 a	
---------- Teor de P nos grãos (g kg^{-1}) ----------					---------- Teor de P nos grãos (g kg^{-1}) ----------				
Braquiária	3,20	3,80	5,61	4,20 [ns]	Braquiária	3,18	3,73	4,44	3,78 [ns]
Pousio	3,28	4,09	4,56	3,98 [ns]	Pousio	3,17	3,61	4,13	3,64 [ns]
Média	3,24 b	3,94 b	5,09 a		Média	3,18 b	3,67 b	4,37 a	
---------- Exportação de P pelos grãos (kg ha^{-1}) ----------					---------- Exportação de P pelos grãos (kg ha^{-1}) ----------				
Braquiária	6,7	9,3	15,2	10,4 [ns]	Braquiária	3,1	5,5	7,2	5,3 [ns]
Pousio	7,7	11,0	14,4	11,0 [ns]	Pousio	3,8	5,6	7,1	5,5 [ns]
Média	7,2 c	10,2 b	14,8 a		Média	3,5 c	5,6 b	7,2 a	
	2014/2015					2015/2016			
---------- Produtividade de grãos (kg ha^{-1}) ----------					---------- Produtividade de grãos (kg ha^{-1}) ----------				
Braquiária	1362	2513	3475	2450 B	Braquiária	1714 Ac	3134 Ab	3609 Ba	2819
Pousio	1433	2829	3740	2667 A	Pousio	1659 Ac	3205 Ab	4008 Aa	2957
Média	1397 c	2671 b	3608 a		Média	1686	3169	3809	
---------- Teor de P nos grãos (g kg^{-1}) ----------					---------- Teor de P nos grãos (g kg^{-1}) ----------				
Braquiária	3,40	3,77	4,19	3,78 [ns]	Braquiária	3,28	4,06	4,53	3,95 A
Pousio	3,45	3,65	4,13	3,74 [ns]	Pousio	3,11	3,59	4,18	3,63 B
Média	3,42 c	3,71 b	4,16 a		Média	3,20 c	3,82 b	4,35 a	3,79
---------- Exportação de P pelos grãos (kg ha^{-1}) ----------					---------- Exportação de P pelos grãos (kg ha^{-1}) ----------				
Braquiária	4,7	9,5	14,5	9,6 B	Braquiária	5,6	12,7	16,3	11,6 [ns]
Pousio	4,7	10,4	15,4	10,1 A	Pousio	5,2	11,5	16,8	11,2 [ns]
Média	4,7 c	9,9 b	15,0 a		Média	5,4 c	12,1 b	16,5 a	

[a] Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha e maiúsculas na coluna são significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$).
[ns] Não significativo.

1.4 Discussão

1.4.1 Cultivo da braquiária ruziziensis na entressafra de soja

A produtividade de braquiária superou 8000 kg ha^{-1} com o efeito residual da aplicação de fertilizantes para o cultivo de soja. A braquiária ruziziensis tem sido bastante cultivada, mas ainda há falta de estudos reportando sua produtividade quando cultivada como cultura de cobertura no período de entressafra. Merlin et al. (2014) reportou produtividades de 3000 kg ha^{-1} em solo sem aplicação de P, e de acordo com Souza Sobrinho et al. (2011), o cultivo de braquiária durante o verão resulta em altas produtividades, de aproximadamente 8000 kg ha^{-1} em apenas 3 meses. A taxa de crescimento inicial da braquiária ruziziensis é maior do que de outras espécies do gênero Urochloa (Louw-Gaume et al., 2010); mas é desacelerada a partir do mês de maio até agosto no hemisfério Sul, retomando uma alta taxa de crescimento a partir de setembro. Portanto, em 2015, a produtividade de braquiária foi quase 7 vezes maior do que em 2012 devido às condições favoráveis que prevaleceram durante toda a entressafra de 2015 (567 mm de precipitação total) (Figura 1). A entressafra 2014 foi marcada por poucas chuvas (360 mm de precipitação total) (Figura 1), e consequentemente a produtividade foi menor do que em 2013 e 2015. O cultivo de braquiária resultou na deposição de grandes quantidades de palha na superfície do solo, que em conjunto com a deposição de raízes, pode ter contribuído para o aumento de MOS no longo-prazo (Urquiaga et al., 1998). No pousio, após o período de entressafra da soja, um maior teor de MOS também foi observado na camada mais superficial do solo devido ao SSD, mas a braquiária resultou em aumento de MOS até 20 cm de profundidade, possivelmente devido a contribuição do sucessivo crescimento do extenso sistema radicular da braquiária (Urquiaga et al., 1998). A vegetação espontânea teve uma produtividade de matéria seca muito baixa, devido à aplicação de herbicidas após a colheita de soja. Além do mais, as sementes de camadas mais profundas do solo possuem poucas condições de germinarem durante a entressafra de soja, devido à falta de revolvimento do solo e às condições climáticas adversas (baixa temperatura e precipitação).

O teor de P na parte aérea da braquiária esteve dentro do limite adequado para as gramíneas, de 0,8 a 1,2 g kg^{-1} (Malavolta et al., 1997), até mesmo no tratamento controle sem aplicação de P. Esta espécie tem sido caracterizada por uma alta eficiência de absorção de P por unidade de comprimento de raiz em solos arenosos, ácidos e com pouco P (Häussler et al., 2006). Além disso, a alta eficiência do uso do

P por gramíneas do gênero Urochloa, foi associado com a alta produção de fosfatases e alto teor de ribonucleases na parte aérea, elevando a síntese de amino ácidos e ácidos orgânicos (Nanamori et al., 2004; Louw-Gaume et al., 2010). Porém, a braquiária ruziziensis é responsiva à aplicação de P (Louw-Gaume et al., 2010), e a produtividade de matéria seca foi maior após o cultivo de soja com aplicação de P, o qual resultou em uma maior quantidade de P acumulado nas folhas, e consequentemente uma maior capacidade de ciclar P com a aplicação de 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 em comparação com a aplicação de 30 kg ha^{-1} de P_2O_5. Resultados similares foram observados por Rosolem et al. (2014).

1.4.2 Efeito da braquiária ruziziensis na disponibilidade de fósforo no solo

De acordo com Almeida e Rosolem (2016), o cultivo de braquiária aumenta a concentração de formas de P lábil nas camadas mais superficiais do solo porque a braquiária é capaz de reduzir a concentração de formas recalcitrantes de P de camadas mais profundas do solo, e retorna o P para a superfície do solo com a mineralização de seus resíduos. Embora este experimento não tenha sido projetado para comparar os teores de P entre as camadas do solo, é possível observar um gradiente na concentração de P ao longo do perfil do solo. Este gradiente foi mais abrupto no solo com pousio do que após a braquiária. De acordo com Costa et al. (2010), a liberação de P da sucessiva decomposição das raízes resulta em distribuição de P das camadas que recebem aplicação de P próximas da superfície do solo para camadas mais profundas do solo no longo-prazo. O maior teor de MOS e possivelmente exsudação de ânions de ácidos orgânicos podem estar também relacionadas com a maior concentração de P_{resina} em solo cultivado com braquiária do que após o pousio (Pavinato e Rosolem, 2008). Além do mais, uma alta atividade de fosfatases, incluindo fitases, tem sido observado na presença de microorganismos na rizosfera de braquiária ruziziensis, os quais podem ter resultado em maior P_{resina} devido à hidrolização de P_o do solo (Nahas, 2002; Rosolem et al., 2014). Porém, parece que estes fatores e processos (alto teor de MOS, exsudação de ácidos orgânicos, atividade de fosfatases e ciclagem de P) que poderiam aumentar a disponibilidade de P, não estão resultando em um efetivo aumento da disponibilidade de P, e o maior teor de P_{resina} parece não estar refletindo na real disponibilidade de P para a soja, uma vez que a concentração de P nas folhas, assim como a produtividade de grãos de soja foram menores após o cultivo de braquiária do que após o pousio.

A produtividade da soja foi em média 10% menor após a braquiária do que o pousio em todos os anos avaliados, mas respondeu à aplicação de P, e a aplicação de 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 resultou em concentrações de P abaixo da faixa de suficiência (2,5 a 5,0 g kg^{-1}) (Malavolta et al., 1997). A exportação de P pelos grãos de soja não foi afetada, uma vez que o teor de P nos grãos de soja cultivada em rotação com a braquiária foi maior do que após o pousio. Portanto, o teor de P total no solo deve ser similar entre o solo cultivado com braquiária e o solo mantido em pousio, enquanto que as concentrações das diferentes formas de P no solo devem ser diferentes, como o observado por Almeida e Rosolem (2016).

A falta de correlação do P_{resina} e o teor de P nas folhas de soja levanta dúvidas sobre a aplicabilidade do teste da resina para a comparação de diferentes sistemas de cultivo. O teste da resina (Raij et al., 1986) tem sido utilizado desde 1983 e é conduzido na análise de rotina em mais de 100 laboratórios em todo o Brasil (Raij et al., 2009). A resina atua como um dreno retirando o P da solução do solo e estimulando a liberação do P da fase sólida do solo, assim como as raízes, e altas correlações do crescimento de plantas e acúmulo de P tem sido geralmente observados (Raij, 1998; Saggar et al., 1999). De acordo com Raij (1998), a extração de P com resina é adaptada para vários tipos de solo, e correlaciona-se melhor com a absorção de P das plantas do que outros métodos como Olsen, Mehlich-1, Bray-1 e Mehlich-3. No presente estudo, a produtividade de soja aumentou de acordo com o aumento das concentrações de P_{resina}; contudo, apesar da acurácia do teste da resina em estimar a disponibilidade de P no solo, parece ser inapropriado comparar a disponibilidade de P entre diferentes sistemas de cultivo implantados a longo-prazo, principalmente quando há o cultivo de culturas de cobertura, como a braquiária.

O teste da resina consiste na extração de P da solução do solo e do P lábil. Formas de P não lábeis e o P não dissolvido dos fertilizantes não devem ser extraídos pela resina. Porém, Mason et al. (2013) observaram por meio de diluição isotópica que o teste da resina resulta em extração de formas não lábeis de P, superestimando a disponibilidade de P no solo. A extração de formas não lábeis de P pela resina ocorre porque a baixa relação solo:solução resulta em solubilização de formas pouco lábeis de P e formas não disponíveis para as plantas (Six et al., 2012). Além disso, a competição de íons pode resultar na liberação de formas não lábeis de P pelo teste da resina, o que também pode contribuir na superestimação do P disponível no solo (Menon et al., 1990). Sendo assim, pode ser hipotetizado que o maior teor de P_{resina}

observado no presente estudo pode ter sido resultado da extração de formas de P não disponíveis. A disponibilidade de P no solo resulta de uma séria de fatores e pode não ser bem representada por uma medida direta, como a determinação da concentração de P extraído por resina. Portanto, a disponibilidade de P deveria ser estimada levando-se em conta os processos que governam a difusão do P e a capacidade do fase sólida do solo em reabastecer P para a solução do solo (Menezes-Blackburn et al., 2016b). O cultivo de braquiária no longo prazo em SSD talvez possa afetar a capacidade de ressuprimento de P pela fase sólida do solo devido às mudanças nas formas de P no solo (Almeida e Rosolem, 2016), o que por sua vez, pode afetar a cinética e equilíbrio do P no solo.

Uma vez que a disponibilidade de P no solo não foi aumentada pela braquiária, o único possível mecanismo para melhorar a oferta de P para a soja poderia ser a liberação de P pelos resíduos da braquiária. Porém, apesar da grande quantidade de P acumulada na parte aérea da braquiária, a disponibilidade de P dos resíduos da braquiária deve ser bastante limitada devido ao baixo teor de P (< 2 g kg^{-1}). De acordo com Damon et al. (2014), a concentração de P nos resíduos de plantas é o principal fator que determina se o P será mineralizado no curto-prazo. Quando o teor de P é menor que 3 g kg^{-1}, praticamente não há mineralização do P_o dos resíduos de plantas no curto-prazo (Damon et al., 2014). O P dos resíduos mantém-se imobilizado quando a concentração no resíduo não é suficiente para atender o requerimento de P para a proliferação de microorganismos em resposta ao carbono adicionado com os resíduos (Harrison, 1987). Portanto, uma importante quantidade de P permanece imobilizada na palha de braquiária, isto pode afetar a nutrição de P da soja, e dessa forma o uso de braquiária como cultura de cobertura pode não melhorar a ciclagem de P do solo devido à baixa decomposição da palhada, como o observado por Costa et al. (2016) em um estudo com braquiária brizanta [*U. brizantha* (A. Rich.) R.D. Webster].

A hipótese de que a baixa produtividade da soja em rotação com braquiária ruziziensis foi causada por alelopatia deve ser eliminada porque nenhum efeito deste tipo foi observado em vários estudos com gramíneas do gênero Urochloa, incluindo no desenvolvimento e produtividade de soja após a própria braquiária ruziziensis (Crusciol et al., 2012; Rosolem et al., 2012). A baixa produtividade de soja observada na rotação com braquiária ruziziensis no presente estudo não pode ser atribuída à deficiência mineral de outros nutrientes além do P ou N. desde que os teores foliares de K, Ca, Mg, S, Cu, Zn, Mn, ou Fe não foram afetados e estiveram dentro da faixa

de suficiência para a soja. O cultivo de braquiária reduziu o teor de N foliar da soja; este efeito é interessante, uma vez que a maior parte do N adquirido pela soja é proveniente da fixação biológica de N (FBN).

De acordo com Hungria et al. (2005), em solos brasileiros, que são pobres em N, 80% do N na soja é proveniente da FBN. Porém, se a FBN é de alguma forma reduzida e se o teor de N do solo não atender a demanda de N pela soja, o N acumulado nas folhas será mobilizado para os grãos, reduzindo a capacidade fotossintética e limitando o potencial produtivo (Salvagiotti et al., 2008). A disponibilidade de P afeta a aquisição de N pelas plantas de soja, uma vez que o P desempenha um papel fundamental no processo da FBN, promovendo a nodulação e aumentando a atividade da nitrogenase (Dadson e Acquaah, 1984; Mullen et al., 1988). De acordo com Chaudhary et al. (2008), a alta demanda de P pelas leguminosas se deve ao envolvimento do P na transferência de energia que deve ocorrer nos nódulos, sendo observada uma severa redução da fotossíntese e FBN em plantas de soja supridas com quantidades insuficientes de P. Sendo assim, a redução da real disponibilidade de P pelo cultivo de braquiária pode ter prejudicado a FBN e consequentemente a aquisição de N pelas plantas de soja.

Diversos estudos tem reportado benefícios do SSD na disponibilidade de P em comparação com o sistema convencional de cultivo, no qual há o revolvimento do solo (Shear e Moschler, 1969; Corbeels et al., 2006; Lienhard et al., 2012); mas poucos estudos abordaram a disponibilidade de P no solo em função da introdução de culturas de cobertura em SSD em comparação com a prática de pousio neste mesmo sistema (Calonego e Rosolem, 2013; Nascente et al., 2013), o que é uma comparação mais justa, uma vez que o sistema convencional resulta em grandes diferenças físicas, químicas e biológicas no solo em comparação com o SSD. Além da falta de informação sobre os efeitos do pousio na disponibilidade de P, geralmente não tem sido observado diferenças na produtividade de grãos após o pousio ou após culturas de cobertura em SSD (Almeida et al., 2008). A baixa produtividade de grãos de soja, e os menores teores de P e N na soja cultivada após braquiária em solo com maior teor de P_{resina} jamais foi reportada, e é provavelmente um efeito de longo-prazo.

1.5 Conclusão

Apesar de ter sido hipotetizado um aumento da disponibilidade de P devido à ciclagem de P por espécies adaptadas a solos pobres em P cultivadas como cultura de cobertura, isto não foi observado a longo-prazo. Ao contrário do que foi hipotetizado, a braquiária ruziziensis reduziu a disponibilidade de P, resultando em menor teor de P nas folhas e menor produtividade de grãos, apesar de ter aumentado o teor de P extraível por resina. Este efeito é observado independentemente das doses de P aplicadas no cultivo da soja. A baixa concentração de P na palhada de braquiária pode reduzir a taxa de mineralização, comprometendo a ciclagem de P e diminuindo a biodisponibilidade de P para a soja.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D. S. et al. Soil phosphorus bioavailability and soybean grain yield impaired by ruzigrass. **Agronomy Journal**, v. 110, n. 2, p. 1-10, 2018.

ALMEIDA, D. S.; ROSOLEM, C. A. Ruzigrass grown in rotation with soybean increases soil labile phosphorus. **Agronomy Journal**, v. 108, n. 6, p. 1-9, 2016.

ALMEIDA, V. P. et al. Rotação de culturas e propriedades físicas e químicas em Latossolo Vermelho de Cerrado sob preparo convencional e semeadura direta em adoção. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 1227-1237, 2008.

BEGUM, H. H. et al. Role of phosphoenolpyruvate carboxylase in the adaptation of a tropical forage grass to low-phosphorus acid soils. **Journal of Plant Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 35-57, 2006.

BRAUM, S. M.; HELMKE, P. A. White lupin utilizes soil phosphorus that is unavailable to soybean. **Plant and Soil**, v. 176, n. 1, p. 95-100, 1995.

CALONEGO, J. C.; ROSOLEM, C. A. Phosphorus and potassium balance in a corn–soybean rotation under no-till and chiseling. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 96, n. 1, p. 123-131, 2013.

CASTRO FILHO, C. et al. Aggregate stability under different soil management systems in a red latosol in the state of Parana, Brazil. **Soil and Tillage Research**, v. 65, n. 1, p. 45-51, 2002.

CEPAGRI. **Clima dos municípios paulistas: Botucatu** http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima_muni_086.html. 2016.

CHAUDHARY, M. I. et al. The effect of phosphorus deficiency on nutrient uptake, nitrogen fixation and photosynthetic rate in mashbean, mungbean and soybean. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 30, n. 4, p. 537-544, 2008.

CLAESSEN, M. E. C. et al. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: Embrapa-CNPS, 1997. 212 p.

CORBEELS, M. et al. Soil carbon storage potential of direct seeding mulch-based cropping systems in the Cerrados of Brazil. **Global Change Biology**, v. 12, n. 9, p. 1773-1787, 2006.

COSTA, C. H. M. D. et al. Nitrogen fertilization on palisadegrass: Phytomass decomposition and nutrients release. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, p. 159-168, 2016.

COSTA, S. E. V. G. A. et al. Patterns in phosphorus and corn root distribution and yield in long-term tillage systems with fertilizer application. **Soil and Tillage Research**, v. 109, n. 1, p. 41-49, 2010.

CRUSCIOL, C. A. C. et al. An innovative crop–forage intercrop system: Early cycle soybean cultivars and palisadegrass. **Agronomy Journal**, v. 104, n. 4, p. 1085-1095, 2012.

DADSON, R. B.; ACQUAAH, G. *Rhizobium japonicum*, nitrogen and phosphorus effects on nodulation, symbiotic nitrogen fixation and yield of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) in the Southern Savanna of Ghana. **Field Crops Research**, v. 9, n. Supplement C, p. 101-108, 1984.

DAMON, P. M. et al. Crop residue contributions to phosphorus pools in agricultural soils: A review. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 74, n. Supplement C, p. 127-137, 2014.

EASTERWOOD, G. W.; SARTAIN, J. B. Clover residue effectiveness in reducing orthophosphate sorption on ferric hydroxide coated soil. **Soil Science Society of America Journal**, v. 54, n. 5, p. 1345-1350, 1990.

ESTEVES, J. A. D. F. **Substituição de fosfato solúvel por reativo em soja cultivada em semeadura direta em função de níveis de fósforo e modo de aplicação**. 2004. 119 (Doutorado em Agronomia/Agricultura). Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu.

FEHR, W. R. et al. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine Max* (L.) Merrill. **Crop Science**, v. 11, n. 6, p. 929-931, 1971.

GUPPY, C. N. et al. Competitive sorption reactions between phosphorus and organic matter in soil: a review. **Australian Journal of Soil Research**, v. 43, n. 2, p. 189-202, 2005.

HARRISON, A. F. **Soil organic phosphorus: a review of world literature**. Wallingford: CAB International, 1987. 257 p.

HÄUSSLER, K. et al. Shoot and root growth of two tropical grasses, *Brachiaria ruziziensis* and *B. dictyoneura*, as influenced by aluminium toxicity and phosphorus deficiency in a sandy loam Oxisol of the eastern plains of Colombia. **Tropical Grasslands**, v. 40, p. 213-221, 2006.

HU, H.; TANG, C.; RENGEL, Z. Role of phenolics and organic acids in phosphorus mobilization in calcareous and acidic soils. **Journal of Plant Nutrition**, v. 28, n. 8, p. 1427-1439, 2005.

HUNGRIA, M. et al. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in south america. In: WERNER, D.; NEWTON, W. E. (Ed.). **Nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology, and the environment**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2005. p.25-42.

JACKSON, M. L. **Soil chemical analysis**. New Delhi: Prentice Hall of India 1973. 498 p.

LIENHARD, P. et al. No-till and cover crops shift soil microbial abundance and diversity in Laos tropical grasslands. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 33, n. 2, p. 375-384, 2012.

LOUW-GAUME, A. E. et al. A comparative study on plant growth and root plasticity responses of two *Brachiaria* forage grasses grown in nutrient solution at low and high phosphorus supply. **Plant and Soil**, v. 328, n. 1, p. 155-164, 2010.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, A. S. **Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações**. 2nd. Piracicaba: Potafós, 1997. 319 p.

MASON, S. D. et al. Soil test measures of available P (Colwell, resin and DGT) compared with plant P uptake using isotope dilution. **Plant and Soil**, v. 373, n. 1, p. 711-722, 2013.

MENEZES-BLACKBURN, D. et al. A holistic approach to understanding the desorption of phosphorus in soils. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 7, p. 3371-3381, 2016.

MENON, R. G.; CHIEN, S. H.; HAMMOND, L. L. Development and evaluation of the Pi soil test for plant-available phosphorus. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 21, n. 13-16, p. 1131-1150, 1990.

MERLIN, A.; HE, Z. L.; ROSOLEM, C. A. Ruzigrass affecting soil-phosphorus availability. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 12, p. 1583-1588, 2013.

MERLIN, A.; HE, Z. L.; ROSOLEM, C. A. Congo grass grown in rotation with soybean affects phosphorus bound to soil carbon. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 888-895, 2014.

MERLIN, A.; ROSOLEM, C. A.; HE, Z. L. Non-labile phosphorus acquisition by *Brachiaria*. **Journal of Plant Nutrition**, v. 39, n. 9, p. 1319-1327, 2015.

MULLEN, M. D.; ISRAEL, D. W.; WOLLUM, A. G. Effects of *Bradyrhizobium japonicum* and soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) phosphorus nutrition on nodulation and dinitrogen fixation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, n. 10, p. 2387-2392, 1988.

NAHAS, E. Microrganismos do solo produtores de fosfatases em diferentes sistemas agrícolas. **Bragantia**, v. 61, p. 267-275, 2002.

NANAMORI, M. et al. Low phosphorus tolerance mechanisms: Phosphorus recycling and photosynthate partitioning in the tropical forage grass, *Brachiaria* hybrid cultivar mulato compared with rice. **Plant and Cell Physiology**, v. 45, n. 4, p. 460-469, 2004.

NASCENTE, A. S.; CRUSCIOL, C. A. C.; COBUCCI, T. The no-tillage system and cover crops - Alternatives to increase upland rice yields. **European Journal of Agronomy**, v. 45, p. 124-131, 2013.

PAVINATO, P. S.; MERLIN, A.; ROSOLEM, C. A. Phosphorus fractions in Brazilian Cerrado soils as affected by tillage. **Soil and Tillage Research**, v. 105, n. 1, p. 149-155, 2009.

PAVINATO, P. S.; ROSOLEM, C. A. Disponibilidade de nutrientes no solo: Decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 911-920, 2008.

RAIJ, B. Bioavailable tests: Alternatives to standard soil extractions. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 29, n. 11-14, p. 1553-1570, 1998.

RAIJ, B. et al. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. 285 p.

RAIJ, B. et al. Ion exchange resin for assessing phosphorus availability in soils. **Better Crops**, v. 93, p. 1-3, 2009.

RAIJ, B. et al. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo (Boletim Técnico, 100)**. 2. Campinas: Instituto Agronômico/Fundação IAC, 1997. 285 p.

RAIJ, B.; QUAGGIO, J. A.; DA SILVA, N. M. Extraction of phosphorus, potassium, calcium, and magnesium from soils by an ion-exchange resin procedure. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 17, n. 5, p. 547-566, 1986.

ROSOLEM, C. A.; ALMEIDA, D. S. Are reactive rock phosphate and superphosphate mixtures suitable for no-till soybean? **Agronomy Journal**, v. 106, n. 4, p. 1455-1460, 2014.

ROSOLEM, C. A.; MERLIN, A.; BULL, J. C. L. Soil phosphorus dynamics as affected by congo grass and P fertilizer. **Scientia Agricola**, v. 71, p. 309-315, 2014.

ROSOLEM, C. A.; PIVETTA, L. A. Mechanical and biological approaches to alleviate soil compaction in tropical soils: Assessed by root growth and activity (Rb uptake) of soybean and maize grown in rotation with cover crops. **Soil Use and Management**, v. 33, p. 141-152, 2017.

ROSOLEM, C. A. et al. Nitrogen immobilization by congo grass roots impairs cotton initial growth. **Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 9, p. 126-136, 2012.

SAGGAR, S. et al. Development and evaluation of an improved soil test for phosphorus, 3: Field comparison of Olsen, Colwell and resin soil P tests for New Zealand pasture soils. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 55, n. 1, p. 35-50, 1999.

SALVAGIOTTI, F. et al. Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review. **Field Crops Research**, v. 108, n. 1, p. 1-13, 2008.

SANTOS, H. G. et al. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 376 p.

SHEAR, G. M.; MOSCHLER, W. W. Continuous corn by the no-tillage and conventional tillage methods: A six-year comparison. **Agronomy Journal**, v. 61, n. 4, p. 524-526, 1969.

SIX, L. et al. The performance of DGT versus conventional soil phosphorus tests in tropical soils - An isotope dilution study. **Plant and Soil**, v. 359, n. 1, p. 267-279, 2012.

SOUZA SOBRINHO, F. et al. Produtividade e qualidade da forragem de *Brachiaria* na Região Norte Fluminense. **Pesquisa Aplicada e Agrotecnologia**, v. 2, n. 3, p. 7-12, 2011.

URQUIAGA, S. et al. Influence of decomposition of roots of tropical forage species on the availability of soil nitrogen. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 30, n. 14, p. 2099-2106, 1998.

CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DA DISPONIBILIDADE DE FÓSFORO EM SOLO CULTIVADO COM BRAQUIÁRIA RUZIZIENSIS

Resumo

O cultivo de braquiária ruziziensis (*Urochloa ruziziensis*) em sistemas de rotação de culturas tem sido sugerido como uma estratégia para aumentar a ciclagem e disponibilidade de fósforo. No entanto, apesar do aumento da concentração de fósforo observado com o método da resina, reduções na produtividade de grãos de culturas em sucessão à braquiária têm sido observadas. O objetivo deste estudo foi avaliar a disponibilidade de fósforo para o milho (*Zea mays*) em solo cultivado com braquiária, com ou sem aplicação de fósforo. A labilidade de fósforo foi avaliada usando o fracionamento de fósforo e extração com resina, e a dessorção/adsorção de fósforo foi avaliada com calorimetria de titulação isotérmica. Em um experimento de casa de vegetação, foram estudadas as mudanças nas concentrações de fósforo obtidas na extração sequencial de fósforo do solo da rizosfera do milho. O cultivo de braquiária resultou em maior concentração de fósforo extraível por resina e teor de matéria orgânica no solo do que o pousio. Porém, no solo cultivado com braquiária, o acúmulo de fósforo nas plantas de milho e a dessorção do fósforo foram menores, e a adsorção de fósforo foi maior do que no solo com pousio. No geral, o fósforo orgânico extraído com bicarbonato e hidróxido de sódio não foi disponível. A sorção de fósforo avaliada com calorimetria de titulação isotérmica foi um melhor indicador da biodisponibilidade de fósforo para o milho do que o teste da resina, possivelmente devido ao aumento de matéria orgânica do solo, que resultou na formação de fitatos com metais e mais sítios de adsorção de fósforo no solo. A maior solubilidade e disponibilidade de fósforo no solo com pousio parece ocorrer devido a dissolução de fosfatos de cálcio, maior dessorção e menor potencial de adsorção de fósforo. A calorimetria de titulação isotérmica é uma ferramenta semi-quantitativa e útil para a elucidação da dinâmica dos processos de sorção de fósforo no solo.

Este segundo capítulo está publicado na Geoderma (ISSN: 0016-7061), disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.10.003, e será citado nos próximos capítulos como: Almeida et al. (2018a).

2.1 Introdução

A braquiária ruziziensis [*Urochloa ruziziensis* (R. Germ. e C.M. Evrard) Morrone e Zuloaga] é uma espécie tolerante à baixa disponibilidade de fósforo (P) no solo devido à sua alta eficiência de aquisição deste nutriente, e tem sido estudada em sistemas de rotação de culturas com o objetivo de aumentar a disponibilidade de P por meio de ciclagem (Merlin et al., 2014; Almeida e Rosolem, 2016; Almeida et al., 2018b). A alta capacidade de aquisição de P pela braquiária ruziziensis pode estar relacionada ao seu extenso sistema radicular (Boddey et al., 1996) e à capacidade das raízes exsudarem ânions de ácidos orgânicos (AO), como o citrato (Wenzl et al., 2001), que a permite obter o P ligado ao Fe e ao Al (Merlin et al., 2015). Almeida e Rosolem (2016) observaram um aumento no P lábil e moderadamente lábil nas camadas superficiais do solo, e uma redução do P recalcitrante em subsuperfície, após o cultivo de braquiária ruziziensis durante a entressafra de soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. Sendo assim, a ciclagem de P deve ser maior em sistemas com rotação com braquiária (Merlin et al., 2013; Almeida e Rosolem, 2016). Porém, Almeida et al. (2018b) observaram menor teor de P nas folhas de soja e menor produtividade de grãos de soja após o cultivo de braquiária ruziziensis do que após o pousio. Desde que o teor foliar de P é menor após a braquiária (Almeida et al., 2018b), foi hipotetizado que a braquiária reduz a disponibilidade de P no solo para os cultivos subsequentes devido a redução da dessorção de P no solo. Há também a hipótese de que a extração de P por resina e pelo fracionamento do P não são adequados para estimar corretamente a disponibilidade de P para as plantas em sistemas de rotação em contraste com o pousio.

Os íons fosfatos são predominantemente retidos no solo por meio de troca de ligantes em minerais de argila do tipo 1:1, óxidos de Fe e Al, e em fosfatos precipitados com Fe, Al e Ca (Sparks, 2003). Por meio da compreensão dos mecanismos de sorção, o manejo do P para aumentar a eficiência do uso deste nutriente pode ser melhor planejado (Sharpley, 1995). Isotermas de sorção e índice de sorção de P são comumente usados em estudos de sorção de P (Anghinoni et al., 1996; Campos et al., 2016). Contudo, por meio do uso de isotermas de sorção e índice de sorção de P não é possível determinar precisamente as reações de sorção (Veith e Sposito, 1977). A calorimetria de titulação isotérmica (isothermal titration calorimetry - ITC) tem sido usada como uma técnica complementar para determinar as reações de sorção de P no solo, providenciando uma medida sensível e direta do calor das reações (Penn e

Warren, 2009; Penn e Zhang, 2010; Lyngsie et al., 2014). Penn e Warren (2009) estudaram a adsorção de P pela caulinita usando ITC, e observaram que as reações de adsorção de P pela troca de ligação resultam em reações exotérmicas, enquanto que a precipitação de fosfatos com Al resultam em reações endotérmicas. Estes mesmos autores observaram que titulações de fosfato monossódico (NaH_2PO_4) em soluções de cloreto de alumínio ($AlCl_3$) e cloreto de ferro ($FeCl_3$) resultam em reações endotérmicas, por causa da precipitação do fosfato com Fe e Al. Titulações de ácido clorídrico (HCl) em soluções com caulinita foram exotérmicas devido à dissolução mineral. Outra reação exotérmica foi a adsorção de fluoreto na caulinita. Estas observações foram confirmadas em solos com diferentes mineralogias, exibindo reações exotérmicas com troca de ligações em minerais de cargas variáveis (Penn e Zhang, 2010; Penn et al., 2014). Além disso, já foi observado que a precipitação de fosfatos de Ca é exotérmica (Penn e Zhang, 2010). Todas estas evidências de reações endotérmicas e exotérmicas são fundamentais para dar suporte ao estudo da dinâmica do P no solo.

Os objetivos deste estudo foram mensurar diretamente as quantidades e formas de P no solo disponíveis para plantas de milho em solo previamente cultivado com braquiária ruziziensis em dois níveis de P no solo, e avaliar a adsorção e dessorção de P usando ITC neste contexto de disponibilidade de P no solo.

2.2 Material e métodos

Amostras de solo foram coletadas em 2012, em um experimento de longa duração em Botucatu, São Paulo, Brasil (22°50′00″ S; 48°25′31″ O; 806 m de altitude), sob sistema semeadura direta (SSD) desde 1998. A área escolhida para o experimento de longa duração não foi cultivada por vários anos até 1998. De 1998 até 2005, foi cultivado soja em SSD durante o verão em rotação com aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.) ou triticale (x *Triticosecale* Witt.) no outono/inverno, e milheto [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] na primavera. Desde 2006, tem sido cultivado soja em rotação com braquiária ruziziensis ou pousio. O solo é um Latossolo Vermelho distroférrico (Santos et al., 2006), de textura média, com 67% de areia e 21% de argila. A caracterização química do solo está apresentada na Tabela 6.

Tabela 6 – Características químicas do solo em diferentes profundidades antes da implantação do experimento em 1998 (Esteves, 2004).

Profundidade	pH[a]	MOS[b]	P_{resina}[c]	H+Al[d]	K	Ca	Mg	CTC[e]
cm		g kg^{-1}	mg kg^{-1}	----------	----------	mmol$_c$ kg^{-1}	----------	----------
0–5	5,2	21	18	27	2,7	21	13	64
5–10	5,1	18	16	28	0,7	17	11	57
10–20	4,6	19	5	34	0,6	8	6	48

[a] pH do solo em solução de cloreto de cálcio.
[b] Matéria orgânica do solo estimada de acordo com o teor de carbono do solo.
[c] Fósforo extraído com resina.
[d] Acidez potencial.
[e] Capacidade de troca de cátions.

As amostras de solo foram coletadas de parcelas com diferentes aplicações de P, com rotação de braquiária, e com pousio durante a entressafra. Os tratamentos foram compostos pela combinação das seguintes aplicações de P e sistemas de cultivo: solo com baixo teor de P proveniente de parcelas sem aplicação de P; solo com alto teor de P proveniente de parcelas que receberam um total de 980 kg ha^{-1} de P_2O_5 aplicados na forma de superfosfato triplo (SFT) desde 1998 até 2012; e presença ou ausência de braquiária cultivada como cultura de cobertura durante a entressafra. As amostras de solo foram coletadas nas profundidades de 0–5 e 0–20 cm em novembro de 2012, após a dessecação da braquiária. Seis sub-amostras de solo foram aleatoriamente coletadas na camada de 0–5 cm usando uma sonda com 50 mm de diâmetro e então compostas em uma única amostra por parcela. Três sub-amostras de solo foram coletadas na camada de 0–20 cm de cada parcela usando uma pá para obter quantidade suficiente de solo para conduzir um experimento em casa de vegetação.

Sub-amostras de ambas as profundidades foram secas ao ar e peneiradas em peneira de malha de 2 mm para as subsequente determinações: P extraível por resina (P_{resina}), assim como o Ca extraível por resina (Raij et al., 1986), pH em solução de cloreto de cálcio (0,01 mol L^{-1}), matéria orgânica do solo (MOS) e acidez potencial (H+Al), de acordo com Raij et al. (2001).

2.2.1 Fracionamento químico do fósforo no solo

Foi realizado a análise de fracionamento do P (Hedley et al., 1982) de acordo com algumas modificações propostas por Condron e Goh (1989). Mais detalhes sobre o método de fracionamento do P foram descritos por Gatiboni et al. (2013). Em

resumo, 0,5 g de solo foram colocados em tubos de centrífuga e submetidos à seguinte sequência de extração: resina de troca aniônica (RTA) tipo AR-204SZRA (GE Water & Process Technologies, Pensilvânia, EUA), saturada com bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$) 0,5 mol L^{-1}, pH 8,5; $NaHCO_3$ 0,5 mol L^{-1}, pH 8,5; hidróxido de sódio 0,1 mol L^{-1} (NaOH-0,1); ácido clorídrico 0,1 mol L^{-1} (HCl); e hidróxido de sódio 0,5 mol L^{-1} (NaOH-0,5). Para evitar o resíduo de extratores nas extrações seguintes, o solo foi centrifugado com solução de NaCl 0,5 mol L^{-1} após a retirada de cada extrato, de acordo com o descrito por Gatiboni et al. (2013). Após as extrações, o solo foi seco em estufa a 50ºC, moído em gral de ágata, e 0,1 g do solo moído foi submetido à digestão nitro-perclórica (HNO_3 + $HClO_4$, na proporção de 5:3, v/v) para a extração do P residual (P-Residual) (Chen et al., 2000). Uma solução padrão (500 mg kg^{-1} de P) foi adicionada em algumas amostras para avaliar a eficiência de recuperação da digestão nitro-perclórica, a qual foi de aproximadamente 92%. Os extratos ácidos obtidos com RTA, HCl, e digestão nitro-perclórica foram usados para determinar as respectivas frações de P inorgânico (P_i): P-RTA, P-HCl e P-Residual usando o método do azul de molibdato (Murphy e Riley, 1962). Os extratos alcalinos obtidos com $NaHCO_3$ e NaOH foram divididos em duas alíquotas. Na primeira alíquota de cada extrato, a concentração de P_i foi determinada imediatamente após a extração para evitar a hidrólise do P orgânico (P_o) presente nestes extratos (Dick e Tabatabai, 1977). Desta forma, as seguintes frações de P_i foram obtidas: P_i $NaHCO_3$, P_i NaOH-0,1 e P_i NaOH-0,5. A segunda alíquota destes extratos foi submetida à digestão com persulfato de amônio [$(NH_4)_2S_2O_8$] e ácido sulfúrico (H_2SO_4) em autoclave (124ºC e 103 kPa por 2 h), para determinação do P total (P_t) nos extratos. A diferença entre o P_t e o P_i corresponde ao P orgânico (P_o) para cada extrato. Sendo assim, foram obtidas as seguintes frações: P_t $NaHCO_3$, P_o $NaHCO_3$, P_t NaOH-0,1, P_o NaOH-0,1, P_t NaOH-0,5 e P_o NaOH-0,5. Todas as análises do fracionamento foram realizadas em triplicata. As concentrações de P foram determinadas em espectrofotômetro, modelo 600S (FEMTO, São Paulo, Brasil). A soma de todas as frações de P foi denominada P-Total, incluindo o P-Residual. Por meio da comparação do P-Total determinado diretamente de uma amostra antes do fracionamento do P e o P-Total obtido da soma das frações, observou-se uma recuperação de aproximadamente 80% do P na análise de fracionamento.

2.2.2 Calorimetria de titulação isotérmica

Amostras de solo coletadas na camada de 0–5 cm de profundidade foram submetidas às análises de dessorção e adsorção de P por meio de um calorímetro de titulação isotérmica, modelo CSC 4200 (CSC Inc., Utah, EUA). Amostras da camada de 0–5 cm foram escolhidas para estas análises porque o SSD resulta em efeitos sobre a disponibilidade de P mais pronunciados nas camadas mais próximas da superfície. Titulações com soluções de fosfato monossódico (NaH_2PO_4) foram realizadas para obter um indicador semi quantitativo da capacidade de sorção do P juntamente com algum indicador dos mecanismos de sorção do P no solo. Além disso, titulações e extrações com ácido cítrico foram realizadas para investigar o potencial de dessorção do P, uma vez que a exsudação de ácido cítrico por raízes está relacionada com o aumento da disponibilidade de P na rizosfera (Jones e Darrah, 1994; Hinsinger, 2001).

O calorímetro de titulação isotérmica possui uma sensitividade de detecção de calor de 0.418 µJ e um "nível de ruído" de ± 0.0418 µJ (sinal deconvolucionado). Todas as amostras foram analisadas com 25 titulações de 0,01 mL de titulante em intervalos de 300 s. Para cada experimento, um “branco” foi determinado pela titulação de água deionizada, e subtraído das medidas obtidas com as amostras. Para a análise de calorimetria de titulação isotérmica (ITC), 50 mg de amostras de solo foram colocadas em um recipiente de 1,3 mL preenchido com 0,75 mL de água deionizada. Para estimar o calor da dessorção/dissolução de P, as amostras foram tituladas com 0,001 mol L^{-1} de ácido cítrico (pH 5,5). Para estimar o calor da adsorção de P, as amostras foram tituladas com NaH_2PO_4 0,01 mol L^{-1}. A taxa de calor quantificada pelo calorímetro foi plotada de acordo com o tempo na forma de termograma, e a taxa de calor de cada titulação foi integrada para produzir uma curva de calor.

Para melhor entender a resposta térmica da adição de citrato no solo e em soluções, vários experimentos com ITC foram conduzidos titulando ácido cítrico em 0,75 mL de solução de cloreto de alumínio ($AlCl_3$). Por meio da modelagem de especiação termodinâmica (MINTEQA2, Allison Geoscience Consultants, Georgia, EUA) observou-se que esta titulação pode produzir complexos de citrato com Al. Além disso, uma areia enriquecida com Al, foi preparada em laboratório por meio da adição de Al em areia pura (Acros organics, Nova Jersey, EUA). Essa areia foi também titulada com ácido cítrico. Para a produção da areia enriquecida com Al, o pH foi ajustado a 12 com a adição de NaOH 0,5 mol L^{-1} seguida da imersão na solução de

$AlCl_3$ 0,38 mol L^{-1} por 24 h. Após drenagem e secagem ao ar, o pH foi ajustado em 6. Sub-amostras da areia enriquecida foi utilizada para o preparo de uma curva de adsorção de P, por meio da adição de 0, 0,01, 0,1, 1, 5, 10, 25, 50 e 100 mg L^{-1} de P na forma de fosfato monopotássico (KH_2PO_4), em uma proporção de solo:solução de 1:15. Após 24 h, as sub-amostras foram centrifugadas a 3000 × g por 10 min, filtradas com membrana de filtro (0,45 µm) e o teor de P foi determinado por espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma indutivamente acoplado (inductively coupled plasma - atomic emission spectrometry - ICP-AES). A diferença entre a concentração de P na solução inicial e final equivale ao P adsorvido. Usando a relação entre a concentração de P na solução final e a quantidade de P adicionado na areia, foi realizada aplicação de P para obter uma concentração na solução de 1 mg L^{-1} de P na areia enriquecida com Al.

Uma extração complementar com ácido cítrico foi conduzida para simular a titulação no calorímetro, usando a mesma razão solo:solução e tempo de equilíbrio. Para essa extração, 1 g de solo foi colocado em tubos falcon de 50 mL preenchidos com 15 mL de água destilada e titulados com ácido cítrico 0,001 mol L^{-1} (pH 5,5), adicionando 0,2 mL do titulante em intervalos de 300 s. As soluções obtidas a cada 300 s foram centrifugadas em seguida a 3000 × g por 10 min, filtradas com membrana de 0,45 µm, e analisadas para a determinação de P, Ca, Al e Fe, por ICP-AES.

2.2.3 Experimento em casa de vegetação

Plantas de milho foram utilizadas como uma forma direta de quantificar o efeito da braquiária na biodisponibilidade de P no solo. O milho foi escolhido ao invés da soja porque é geralmente considerado mais responsivo ao P no solo do que a soja. Optou-se por um experimento em casa de vegetação ao invés de um experimento em campo para obter uma maior precisão na amostragem do solo rizosférico. O milho foi cultivado em vasos de 6 L preenchidos com 7 kg de solo provenientes do experimento de campo. O solo coletado na camada de 0–20 cm de profundidade no experimento de campo foi seco ao ar e peneirado em malha de 4 mm para remoção de raízes, pedras e torrões. Cinco sementes de milho foram semeadas em cada vaso e duas plantas foram mantidas após a emergência. Aos 35 dias após a emergência, as plantas foram colhidas, as raízes foram separadas da parte aérea, o solo aderido às raízes foi cuidadosamente separado e analisado (solo rizosférico). A extração do P com resina (P_{resina}) (Raij et al., 1986) foi realizada em amostras de solo antes do cultivo

do milho e no solo rizosférico. O fracionamento do P também foi realizado como previamente descrito, e foi calculada a diferença na concentração do P (ΔP) entre as amostras coletadas antes do cultivo do milho e no solo rizosférico (ΔP = concentração do P no solo rizosférico – concentração de P antes do cultivo do milho).

Após a amostragem do solo rizosférico, as raízes foram lavadas e armazenadas em solução com etanol (50%) a 5ºC. O comprimento e diâmetro médio das raízes foram determinados com o programa WinRhizo versão 3.8-b (Regent Instrument Inc., Quebec, Canadá), após a digitalização de imagens por meio de scanner de leitura ótica, na resolução de 300 pontos por polegada (dpi). Em seguida, as amostras de raiz e parte aérea foram secas em estufa de aeração forçada (65ºC) para determinação do peso de matéria seca, e depois moídas e peneiradas em malha de 1 mm para determinação da concentração e acúmulo de P, de acordo com o descrito por Malavolta et al. (1997).

2.2.4 Análise estatística

Todos os dados das análises de solo do experimento de campo e fracionamento do P, assim como as análises de solo e planta do experimento de casa de vegetação foram submetidos à análise de homogeneidade de variância pelo teste de Levene. Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p < 0,05$), seguindo o delineamento de blocos inteiramente casualizados no esquema fatorial 2 × 2, com 4 repetições, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o software SAS, versão 9.4 (SAS Inst., Carolina do Norte, EUA). Os resultados da calorimetria de titulação isotérmica foram plotados na forma de taxa de calor de acordo com o tempo. Para cada período de titulação, a taxa de calor foi integrada para produção de termogramas, os quais foram plotados na forma de calor produzido (ou consumido) de acordo com o número de titulações. Os dados de calor obtido versus o número de titulações foram ajustados a equações logarítmicas usando o software SigmaPlot, versão 11 (Systat Software Inc., Califórnia, EUA).

2.3 Resultados

2.3.1 Análise inicial do solo

O teor de P_{resina} foi maior após o cultivo de braquiária do que após o pousio para o tratamento com aplicação de P na camada de 0–5 cm (Figura 3a). Porém, para o solo sem aplicação de P, o pousio resultou em maior teor de P_{resina} do que a braquiária. Na camada de 0–5 cm do solo, a MOS foi maior após a braquiária do que após o pousio, com 19,6 e 16,0 mg dm^{-3}, respectivamente. O teor de Ca no solo foi maior com a aplicação de fertilizantes fosfatados, sendo observado as médias de 47,5 e 38,8 $mmol_c$ dm^{-3} no solo com e sem aplicação de P, respectivamente. Não houve diferença no pH e na acidez total do solo, os quais tiveram médias de 5,9 e 19,5 $mmol_c$ dm^{-3}, respectivamente.

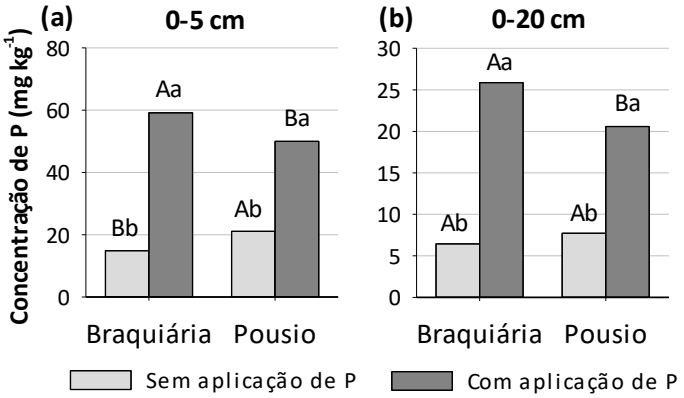

Figura 3 – Concentração de fósforo (P) extraído com resina (P_{resina}) nas camadas de 0–5 cm (a) e 0–20 cm (b), em função do cultivo de braquiária na entressafra e aplicação de P. Médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes entre si (Tukey, $p < 0.05$). Letras maiúsculas comparam o solo cultivado com braquiária ruziziensis e o solo em pousio, e letras minúsculas comparam a aplicação de P.

Resultados semelhantes foram obtidos nas amostras coletadas na camada 0–5 e de 0–20 cm de profundidade. As amostras coletadas na camada de 0–20 cm nas parcelas com braquiária tiveram maior teor de MOS do que o pousio, com médias de 15,4 e 12,5 mg dm^{-3}, respectivamente. Nenhuma diferença foi observada entre a braquiária e o pousio para o pH e acidez potencial, com médias de 4,9 e 39,7 $mmol_c$ dm^{-3}, respectivamente. Porém, houve uma interação da braquiária e aplicação de P para a concentração de P_{resina}. O P_{resina} foi maior após a braquiária do que o pousio em solo com aplicação de P (Figura 3b). O teor de Ca foi maior no solo com aplicação

de P do que no solo sem aplicação de P, com médias de 19,4 e 20,7 $mmol_c\ dm^{-3}$, respectivamente.

A braquiária resultou em maior teor de diversas frações de P na camada 0–5 cm do que o pousio, independentemente da aplicação de P (Figura 4a). As frações de P tipicamente consideradas lábeis (P-RTA, P_t-$NaHCO_3$), moderadamente lábeis (P_t-NaOH 0,1) e pouco lábeis (P_i-NaOH 0,5) foram maiores após a braquiária do que o pousio. O efeito da braquiária sobre as formas de P do solo parece não estar relacionado com a aplicação de P, uma vez que não houve interações da braquiária com a aplicação de P. Praticamente todas as frações de P tiveram maior concentração no solo com aplicação de P do que o solo sem aplicação de P, exceto para o P_o-NaOH 0,5, o qual não foi afetado pela aplicação de P (Figura 4b).

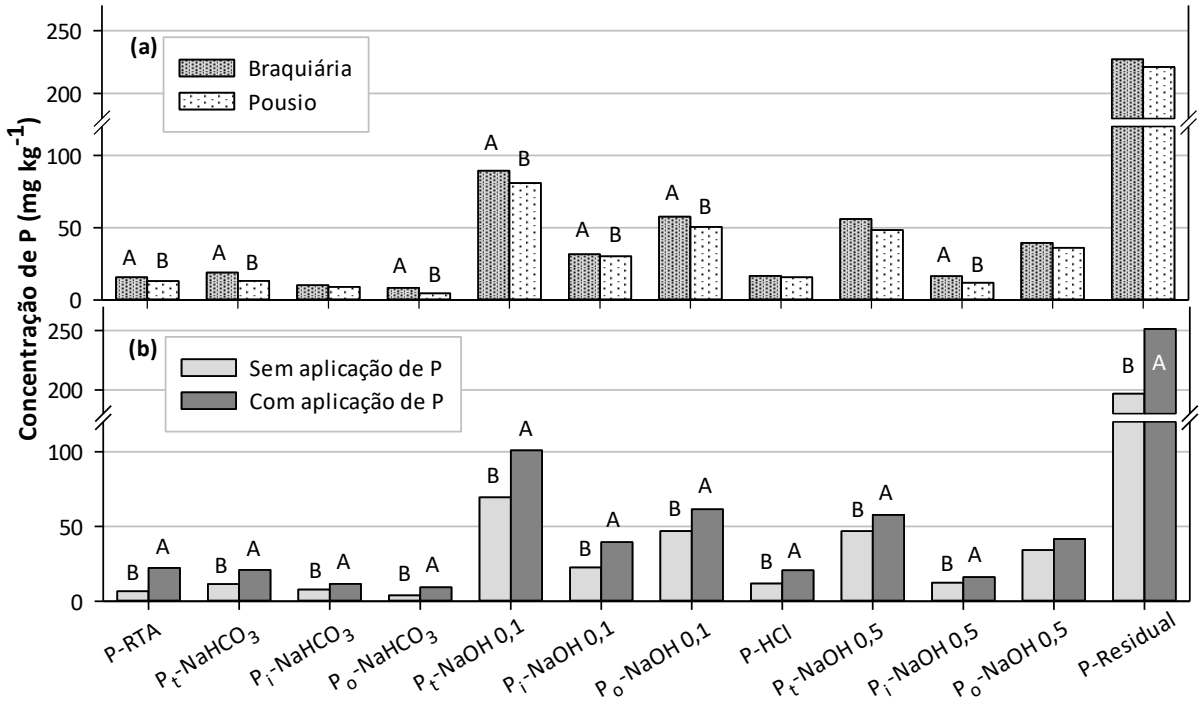

Figura 4 – Frações de fósforo (P) no solo na camada de 0–5 cm de profundidade, em função do cultivo com braquiária ruziziensis ou pousio (a), e de acordo com a aplicação de P (b). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Tukey, $p < 0,05$), para cada fração.

2.3.2 Dessorção do fósforo no solo

A titulação com ácido cítrico resultou em reações inicialmente exotérmicas, mas que foram tornando-se cada vez mais endotérmicas a cada titulação adicional. O termograma obtido da titulação de ácido cítrico em solo sem aplicação de P e cultivado com braquiária teve uma redução contínua nas reações exotérmicas, com o balanço final das reações exibindo pouca absorção ou liberação de calor (i.e., próximo de zero) (Figura 5a), enquanto que o termograma do solo sob pousio e também sem aplicação de P teve uma predominância de picos endotérmicos (Figura 5c). A curva de calor obtida com titulações de ácido cítrico no solo sem aplicação de P e cultivado com braquiária, permaneceu negativa (i.e., exotérmica) durante todas as titulações (Figura 5b), enquanto que o solo em pousio sem aplicação de P resultou em valores positivos (i.e. endotérmico) após 10 titulações (Figura 5d). O termograma das titulações com ácido cítrico em solo com aplicação de P e cultivado com braquiária, foi predominantemente exotérmico (Figura 5e), com um balanço final exotérmico (Figura 5f). Já o solo com pousio resultou em reações exotérmicas que inicialmente foram reduzidas com cada titulação, desenvolvendo reações endotérmicas após 10 titulações (Figura 5g), e teve um balanço final endotérmico e próximo de zero (Figura 5h). A partir da extração complementar com ácido cítrico do solo que não recebeu a aplicação de P, conduzida com o propósito de simular as titulações com o calorímetro, observou-se que o solo com braquiária teve uma menor quantidade de P e Ca liberados após 25 titulações em comparação com o pousio (Figura 6). As concentrações de Fe e Al foram similares, enquanto que o dobro de Ca foi liberado no solo com pousio do que no solo com braquiária.

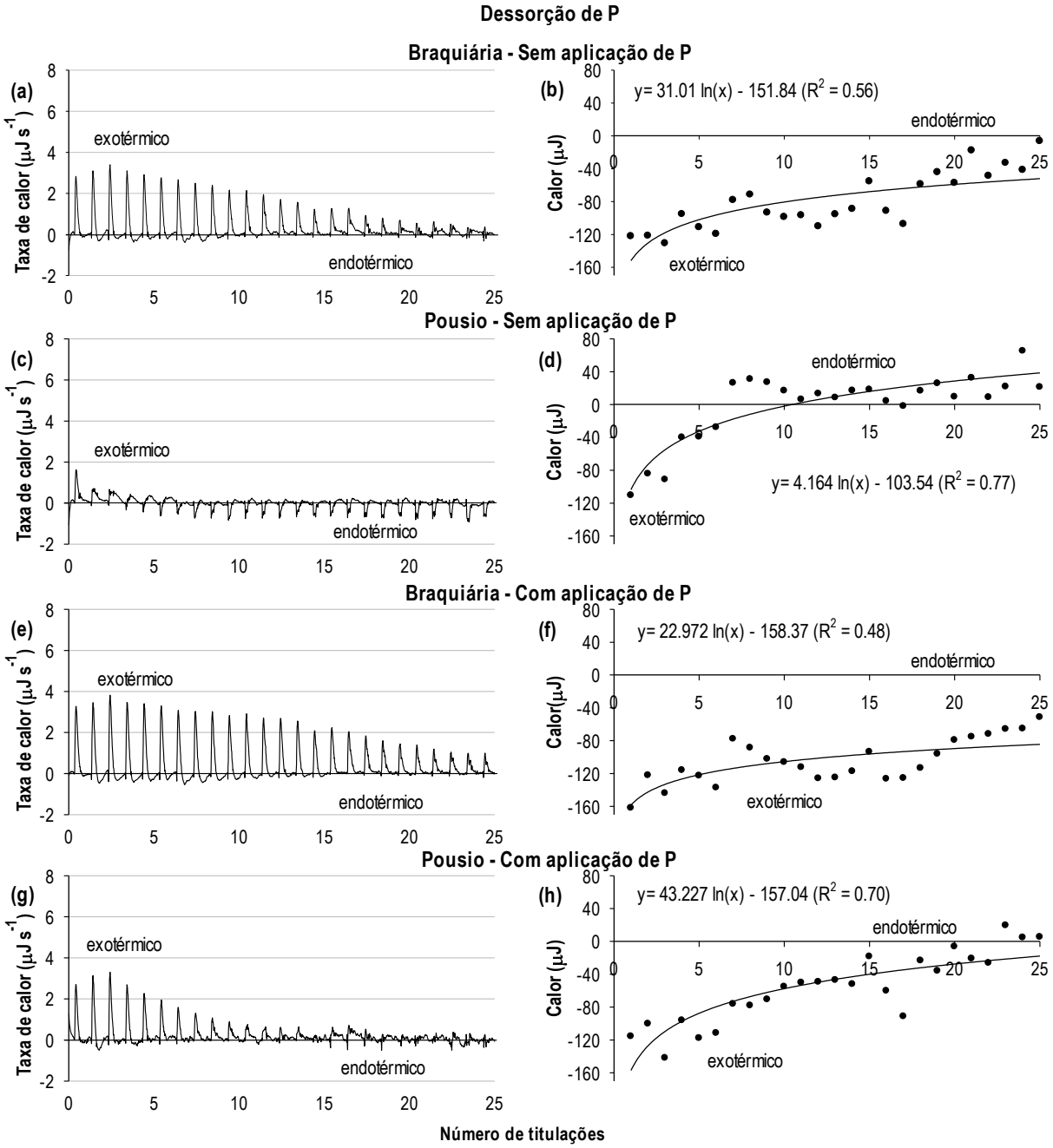

Figura 5 – Termogramas obtidos com a titulação de ácido cítrico (0,001 mol L^{-1}) em solo cultivado com braquiária ruziziensis sem aplicação de P (a), mantido em pousio sem aplicação de P (c), cultivado com braquiária com aplicação de P (e), e mantido em pousio com aplicação de P (g). Curvas de calor obtidas com a integração dos termogramas estão apresentadas ao lado direito de seus respectivos termogramas em b, d, f e h.

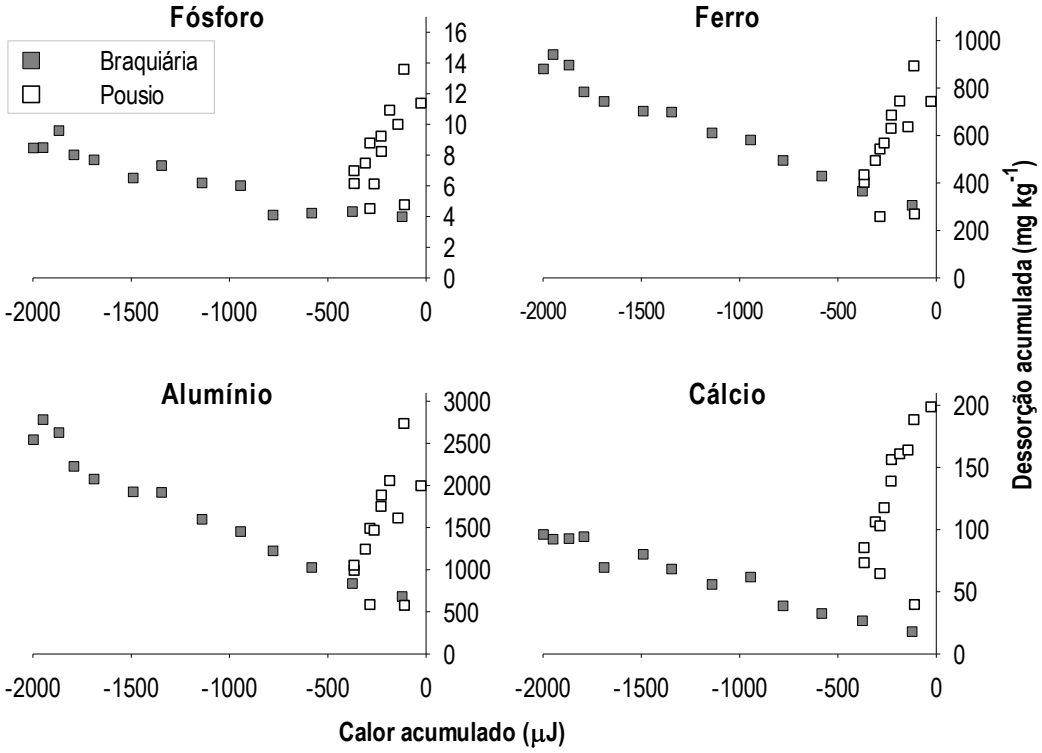

Figura 6 – Dessorção/dissolução acumulada de fósforo, ferro, alumínio e cálcio versus o calor acumulado de acordo com a titulação com citrato (0,001 mol L^{-1}) em função do cultivo de braquiária ruziziensis ou pousio, em solo sem aplicação de fósforo.

A especiação das soluções obtidas após as titulações teve o mesmo padrão obtido nos termogramas; quando o Al livre e as espécies de óxidos de Al na solução foram consumidas pela complexação com citrato, as reações endotérmicas diminuíram até que praticamente todo o Al na solução fosse complexado. A partir da especiação com MINTEQA2 observou-se que a formação de citrato de Al foi praticamente completa após as 25 titulações (Figura 7). Por outro lado, a titulação com ácido cítrico na areia enriquecida com Al (Figura 8) e na areia com Al e P (Figura 9) foi inicialmente exotérmica, mas com as reações mais endotérmicas a cada titulação, eventualmente com balanço de reações próximo de zero.

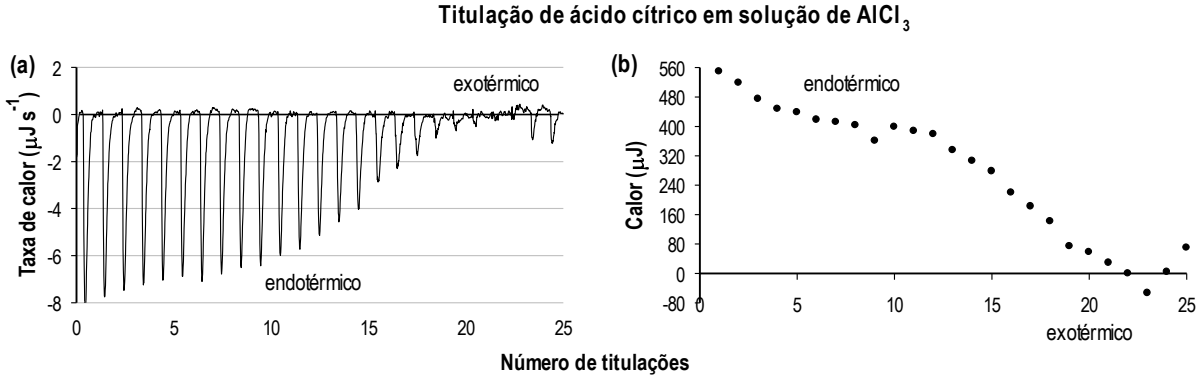

Figura 7 – Termograma obtido com a titulação de ácido cítrico (0,001 mol L^{-1}) em solução de cloreto de alumínio ($AlCl_3$) 0,1 mmol L^{-1} (a), e curva de calor obtida pela integração do termograma (b).

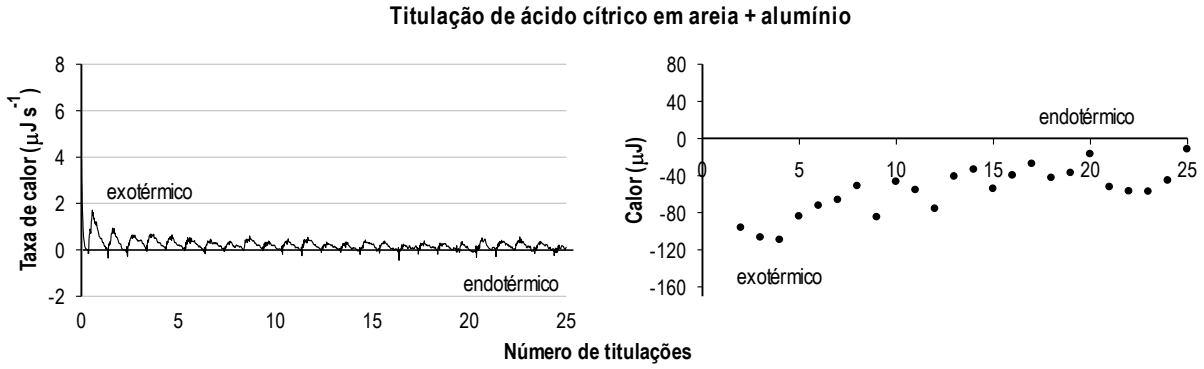

Figura 8 – Termograma obtido com a titulação de ácido cítrico (0,001 mol L^{-1}) em areia enriquecida com alumínio (Al) (a), e curva de calor obtida pela integração do termograma (b).

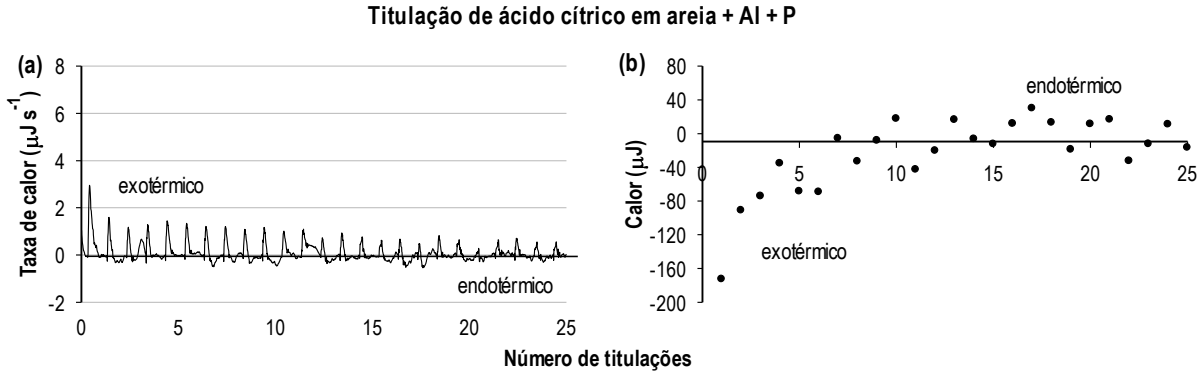

Figura 9 – Termograma obtido com a titulação de ácido cítrico (0,001 mol L^{-1}) em areia enriquecida com alumínio (Al) e fósforo (P) (a), e curva de calor obtida pela integração do termograma (b).

2.3.3 Adsorção do fósforo no solo

As primeiras titulações com NaH_2PO_4 no solo cultivado com braquiária foram altamente exotérmicas, independentemente da aplicação de P no solo. A primeira titulação no solo cultivado com braquiária resultou na liberação de -645 µJ (Figura 10b) e -504 µJ (Figura 10f) de calor para o solo sem e com a aplicação de P, respectivamente. Por outro lado, a primeira titulação no solo em pousio sem e com a aplicação de P, resultou na liberação de apenas -245 µJ (Figura 10d) e -371 µJ (Figura 10h), respectivamente.

Diferentemente do solo cultivado com braquiária (Figura 10a), o pousio resultou em pequenos picos exotérmicos em solo sem aplicação de P (Figura 10c), comparado com o solo com aplicação de P (Figura 10g). O balanço de calor quantificado para o solo cultivado com braquiária sem P (Figura 10b) foi mais exotérmico do que endotérmico do que o solo em pousio sem aplicação de P (Figura 10d). Quando a braquiária foi cultivada em solo com aplicação de P (Figura 10e) menores diferenças foram observadas entre braquiária e pousio do que no solo sem aplicação de P, apesar de que a braquiária em solo com aplicação de P resultou em mais reações exotérmicas após as titulações com P do que o pousio (Figura 10g).

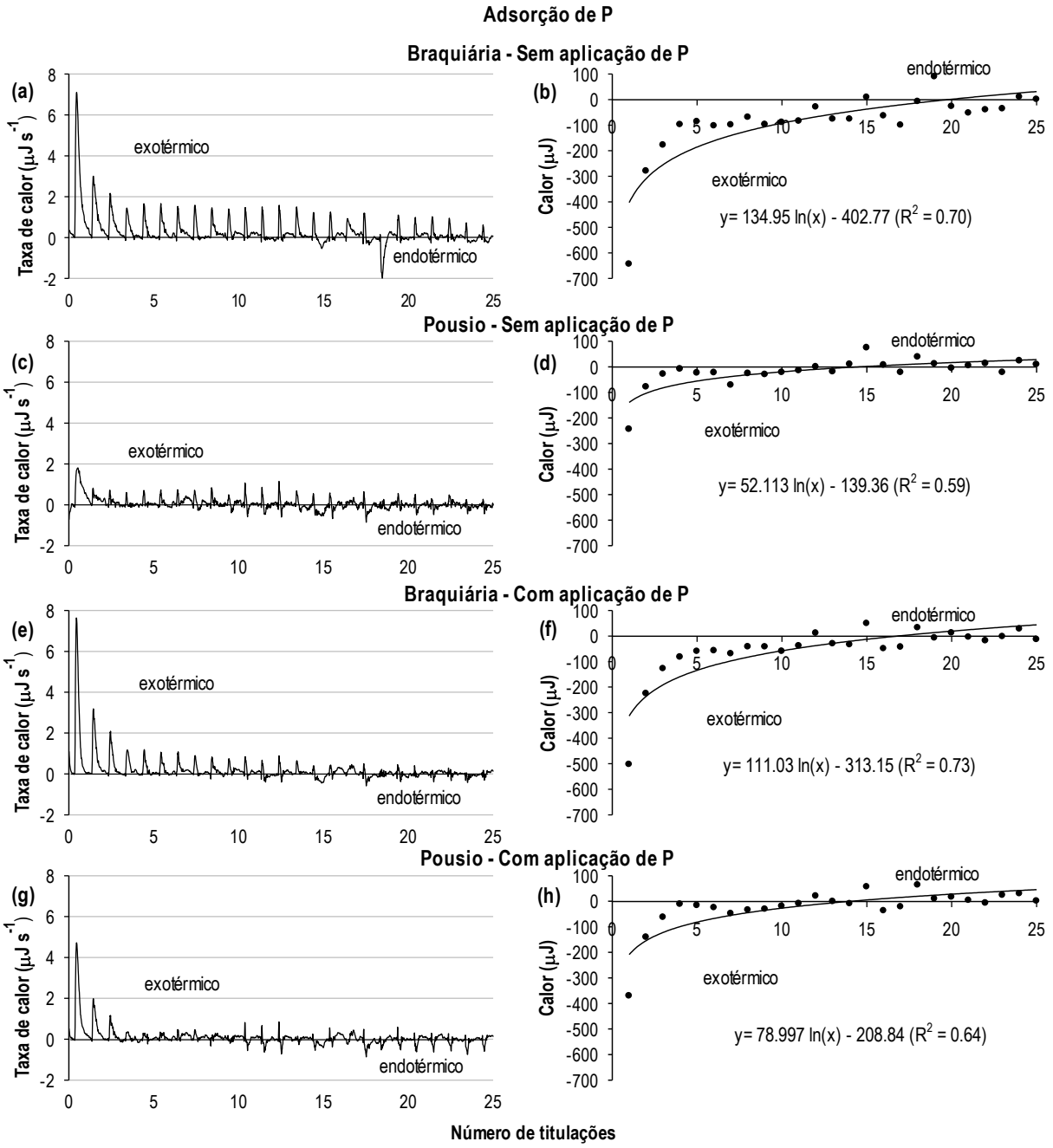

Figura 10 – Termogramas obtidos com a titulação de fosfato monossódico (0,01 mol L^{-1}) em solo cultivado com braquiária sem aplicação de P (a), mantido em pousio sem aplicação de P (c), cultivado com braquiária ruziziensis com aplicação de P (e), e mantido em pousio com aplicação de P (g). Curvas de calor obtidas com a integração dos termogramas estão apresentadas ao lado direito de seus respectivos termogramas em b, d, f e h.

2.3.4 Cultivo do milho

O cultivo de braquiária antes do milho não teve efeito na produção de matéria seca do milho. Já a ausência de aplicação de P no solo resultou em menor peso de matéria seca de raízes e parte aérea do que o solo que recebeu aplicações de P (Tabela 7). Tanto o comprimento quanto o diâmetro médio das raízes de milho foram afetados apenas pela aplicação de P. O comprimento total de raízes por vaso foi em média 307 e 954 m, para o solo sem e com aplicação de P, respectivamente. O diâmetro médio das raízes de milho foi de 0,26 e 0,23 mm, para solo sem e com aplicação de P, respectivamente. O teor de P na parte aérea do milho foi menor em solo cultivado com braquiária do que pousio, com médias de 1,95 e 2,72 mg kg^{-1}, respectivamente. A concentração de P nas raízes não foi afetada por nenhum dos tratamentos, sendo em média 0,76 g kg^{-1}. O acúmulo de P total e na parte aérea do milho foi menor em solo previamente cultivado com braquiária do que no solo com pousio, e também menor no solo sem aplicação de P do que no solo com P (Tabela 7).

Tabela 7 – Peso de matéria seca de parte aérea, raiz e total de plantas de milho aos 35 dias após a emergência, em função do cultivo de braquiária ruziziensis na entressafra e teor de P no solo.

Entressafra	Teor de P no solo		Média
	Baixo	Alto	
---------- Peso de matéria seca da parte aérea (g $vaso^{-1}$) ----------			
Braquiária	2,3	7,5	4,9 ^{ns}
Pousio	2,4	8,7	5,3 ^{ns}
Média	2,3 a[a]	8,1 b	
---------- Peso de matéria seca das raízes (g $vaso^{-1}$) ----------			
Braquiária	1,7	4,1	2,9 ^{ns}
Pousio	1,9	4,3	3,1 ^{ns}
Média	1,8 a	4,2 b	
---------- Peso de matéria seca total (g $vaso^{-1}$) ----------			
Braquiária	3,8	11,4	7,6 ^{ns}
Pousio	4,4	13,3	8,8 ^{ns}
Média	4,1 b	12,3 a	
---------- Acúmulo de P na parte aérea (mg $vaso^{-1}$) ----------			
Braquiária	3,7	17,0	10,4 B
Pousio	5,8	26,3	16,0 A
Média	4,7 b	21,6 a	
---------- Acúmulo de P nas raízes (mg $vaso^{-1}$) ----------			
Braquiária	0,9	3,1	2,0 ^{ns}
Pousio	1,1	5,2	3,2 ^{ns}
Média	1,0 a	4,2 b	
---------- Acúmulo total de P (mg $vaso^{-1}$) ----------			
Braquiária	4,5	20,0	12,2 B
Pousio	6,9	31,8	19,3 A
Média	5,7 b	25,9 a	

[a] Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha e maiúsculas na coluna são significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$). ^{ns} Não significativo.

2.3.5 Solo rizosférico

A diferença (ΔP) obtida nas frações de P entre as amostras coletadas antes e após o cultivo do milho pode ser interpretada como o balanço da absorção de P pela planta, ou transformação do P de um sítio para outro (valores negativos). Algumas interações da aplicação de P no solo e cultivo de braquiária foram observadas (Figura 11). Houve uma menor redução do P-RTA no solo cultivado com braquiária do que mantido em pousio, com aplicação de P, enquanto que no solo sem aplicação de P, houve uma maior redução do P-RTA no solo cultivado com braquiária do que no pousio (Figura 11a). A concentração total de P extraído com NaOH 0,1 mol L^{-1} aumentou na rizosfera apenas quando a braquiária foi cultivada em solo com aplicação de P (Figura 11b). O P_o extraído com NaOH 0,1 mol L^{-1} aumentou em todos os tratamentos, mas ainda mais no solo com aplicação de P e cultivado com braquiária (Figura 11c).

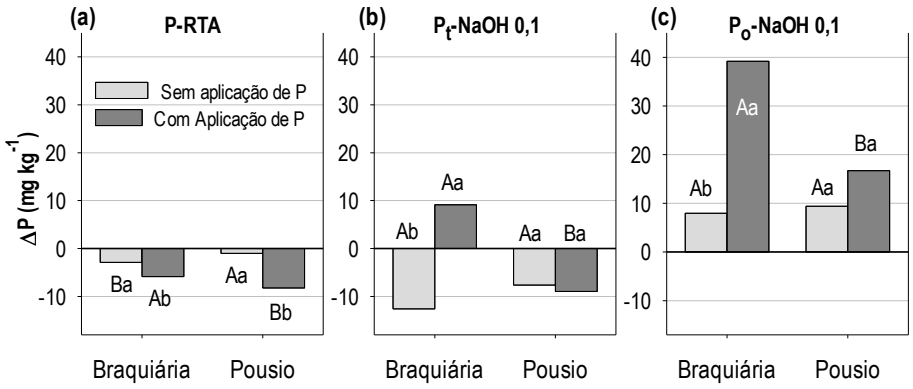

Figura 11 – Diferença na concentração de fósforo (ΔP) entre as frações de P no solo da rizosfera do milho e o solo antes do cultivo do milho, em função do cultivo de braquiária ruziziensis e aplicação de P. Teor de P extraído com resina de troca aniônica (RTA) (a), P total (b), e P orgânico (c), extraídos com hidróxido de sódio 0,1 mol L^{-1} (NaOH 0,1). Médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes entre si (Tukey, $p < 0.05$). Letras maiúsculas comparam o solo cultivado com braquiária e o solo em pousio, e letras minúsculas comparam a aplicação de P.

Para algumas outras frações, não houve interações (Figura 12a). Independentemente do cultivo prévio de braquiária ou do pousio, as quantidades de P_t e P_o extraídos com $NaHCO_3$ foram maiores nas amostras de solo rizosférico do que nas amostras coletadas antes do cultivo de milho (Figura 12a). Porém, ou o P foi menos absorvido pelo milho ou outras formas de P foram transformadas em formas extraídas nas frações P_t-$NaHCO_3$ e P_o-$NaHCO_3$ na rizosfera do milho sob solo previamente cultivado com braquiária em comparação com o pousio. A braquiária

também resultou ou em menor absorção de P pelo milho ou maior transformação do P em formas lábeis (soma do P extraído por resina e $NaHCO_3$) em comparação com o pousio.

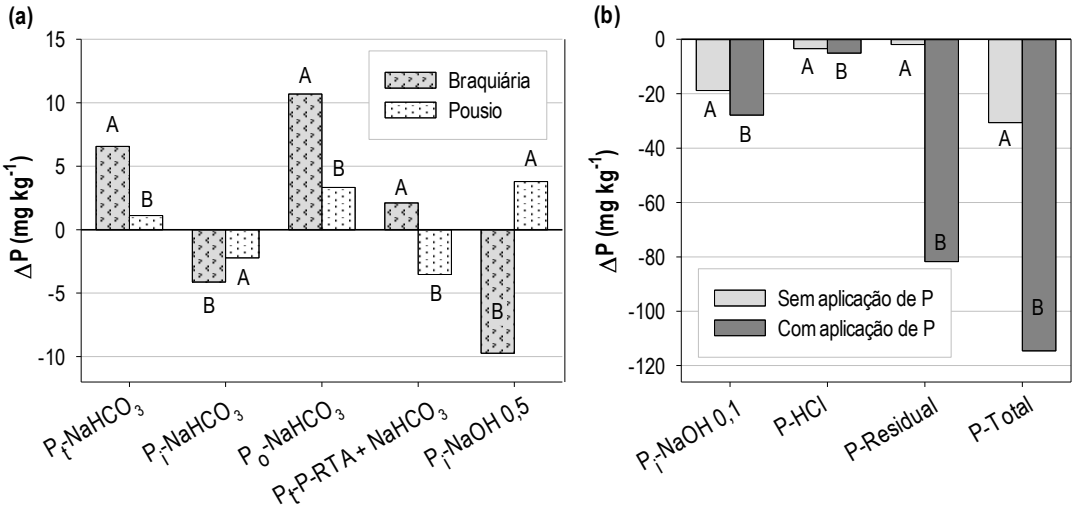

Figura 12 – Diferença na concentração de fósforo (ΔP) entre as frações de P no solo da rizosfera do milho e o solo antes do cultivo do milho, em função do cultivo de braquiária ruziziensis e aplicação de P. Fósforo total (P_t), inorgânico (P_i) e orgânico (P_o) extraídos com bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$), fração lábil de P representada pela soma das frações de P extraídas com resina de troca aniônica (RTA) e $NaHCO_3$ (RTA + $NaHCO_3$), e P_i extraído com hidróxido de sódio 0,5 mol L^{-1} (NaOH 0,5) (a). Fósforo inorgânico extraído com NaOH 0,1 mol L^{-1} (NaOH 0,1), P extraído com ácido clorídrico (HCl), P residual e P total obtido com a soma de todas as frações (b). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Tukey, $p < 0,05$), para cada fração.

As formas de P_i extraídas com $NaHCO_3$ e NaOH 0,5 mol L^{-1} tiveram uma maior absorção pelo milho, ou foram transferidas para outros sítios de P, no solo cultivado com braquiária do que em pousio (Figura 12a). Com respeito às diferenças entre solos com e sem aplicação de P, as formas de P obtidas nas frações P_i-NaOH 0,1, P-HCl e P-Residual foram mais biodisponíveis para o milho ou foram transferidas para outros sítios não extraídos com estas frações, principalmente no solo que recebeu aplicação de P (Figura 12b). A soma de todas as frações, incluindo o P-Residual (P-Total), foi menor na rizosfera do milho para ambos os solos com e sem aplicação de P; porém, o cultivo de braquiária não afetou o P-Total na rizosfera de milho em comparação com o pousio. Desde que o P-Total foi obtido por meio de cálculos, e o fracionamento do P é um método que pode resultar em erros acumulativos, as variações nos teores das frações pode resultar em menores chances de obter diferenças significativas no P-

Total. Não houve efeito dos tratamentos no P_t e P_o extraídos com NaOH 0,5 mol L^{-1}, com médias de 19,7 e 15, 1 mg kg^{-1}, respectivamente.

2.4 Discussão

2.4.1 Acúmulo de fósforo no milho e indicadores da labilidade de fósforo

O aumento das formas lábeis de P, como o observado na extração com resina e na análise de fracionamento, tem sido associado com o aumento da MOS (Almeida et al., 2003). De acordo com Pavinato e Rosolem (2008), o aumento da MOS assim como a exsudação de AO pela braquiária podem resultar em aumento da concentração de formas lábeis de P. De acordo com o observado no fracionamento do P, a braquiária também aumenta os teores de P extraídos por NaOH 0,1 mol L^{-1}. Apesar do P extraível por NaOH 0,1 mol L^{-1} ser interpretado como o P ligado ao Fe e Al (Cross e Schlesinger, 1995), alguns autores observaram que esta fração pode ser importante na nutrição das plantas, principalmente em solos altamente intemperizados, desde que esta fração atua como um tampão no ressuprimento do P extraível por RTA e $NaHCO_3$ (Olibone e Rosolem, 2010). Porém, assim como o observado em experimento de campo com o cultivo de soja após a braquiária (Almeida et al., 2018b), a nutrição de P por plantas de milho também foi prejudicada no presente estudo, o que é um indicativo de que este efeito na disponibilidade de P não é restrito apenas à plantas de soja. No presente estudo, a concentração total de P e na parte aérea do milho foi aproximadamente 30% menor quando o solo foi cultivado com braquiária do que após o pousio. Estes resultados são contrastantes com os resultados da análise de P no solo com resina e de fracionamento do P, o que suporta a hipótese de que estas extrações nem sempre resultam em uma estimativa da real biodisponibilidade de P em solo previamente cultivado com braquiária. Por outro lado, os resultados da extração com citrato e o calor das reações de sorção tiveram uma melhor correlação com o P absorvido pelas plantas de milho. A menor absorção de P pelo milho que resultou em menor concentração de P na parte aérea em solo cultivado com braquiária não ocorreu em função de um menor desenvolvimento de raízes, uma vez que não foram observadas diferenças no comprimento e diâmetro médio das raízes. Isto é bastante interessante, pois apesar das alterações na distribuição das formas de P no solo promovidas pela braquiária resultar em formas de P aparentemente disponíveis (de acordo com a análise de solo com resina e extração sequencial de P), estas não são acessíveis pelas plantas.

2.4.2 O uso do ITC na avaliação da disponibilidade de fósforo no solo

A titulação de citrato em solução com Al com o propósito de criar complexos de citrato de Al na solução foi endotérmica, o que suporta as medidas realizadas por Wu et al. (1997). Independentemente da concentração de Al na solução testada, o experimento de simulação da titulação com posterior especiação de íons correspondeu às reações endotérmicas que desaparecem quando não são mais formados os complexos de citrato e Al (Figura 7). Por outro lado, a titulação de citrato em areia com Al foi claramente exotérmica (Figura 8). É importante notar que a titulação de citrato na areia com Al e P (Figura 9) resultou em um menor grau de exotermia do que a titulação da areia apenas com Al (Figura 8). A partir disso, sugere-se que a troca de ligantes do citrato com cargas variáveis de minerais de Al foi inibida pelo P que já estava ocupando os sítios destes minerais. Geelhoed et al. (1998) mostraram que quando o fosfato e o citrato competem pela troca de ligantes em solos e em minerais puros de óxidos de Fe, o fosfato é um competidor mais efetivo. Similarmente, foi observado em vários estudos que os sítios de ligação do P e citrato são semelhantes e a maioria destes estão associados com a troca de ligantes nas superfícies de óxidos de Fe e Al (Jones e Kochian, 1996; Jones e Brassington, 1998).

Para os termogramas e curvas de calor obtidos após as titulações com citrato, padrões contrastantes foram observados entre o solo cultivado com braquiária ou mantido em pousio. No geral, a titulação com citrato resultou em reações inicialmente exotérmicas que são gradativamente reduzidas enquanto que as reações endotérmicas aumentam. Reações exotérmicas são frequentemente um indicativo de troca de ligantes em minerais de cargas variáveis, como previamente reportado com a titulação de F, DNA e P (Miltenburg e Golterman, 1997; Rhue et al., 2002; Penn e Warren, 2009). Assim como o observado neste estudo, a troca de ligantes do citrato com a areia com Al também foi exotérmica. Reações exotérmicas também tem sido um indicativo da precipitação de fosfatos de Ca e dissolução de fosfatos de Fe e Al, enquanto que as reações endotérmicas podem ser um indicativo da dissolução de fosfatos de Ca e precipitação de fosfatos de Fe e Al (Rhue et al., 2002; Penn e Warren, 2009; Penn e Zhang, 2010). Vale a pena mencionar que várias destas reações geralmente ocorrem simultaneamente, o que é evidente nas observações dos picos e vales resultados de cada titulação nas Figuras 5, 8, 9 e 10.

Combinando as medidas obtidas no calorímetro com a titulação de ácido cítrico no solo sem aplicação de P, com a concentração na solução correspondente na

simulação da titulação, os extratos dos solos cultivados com braquiária ou em pousio possuem quantidades semelhantes de Fe e Al; porém, mais P e Ca foram extraídos do solo em pousio (Figura 6). Após as 25 titulações, houve 8,5 e 13,5 mg kg^{-1} de P, e cerca de 100 e 200 mg kg^{-1} de Ca extraídos dos solos com braquiária e pousio, respectivamente. Novamente, as diferenças em P extraído por citrato concordam com a biodisponibilidade de P para o milho: menor absorção de P pelo milho em solo previamente cultivado com braquiária. Por meio da plotagem do calor das titulações com ácido cítrico versus a concentração na solução resultante das titulações, observa-se duas tendências opostas: aumento ou redução das concentrações de Fe, Al, P e Ca com o calor produzido acumulado (Figura 6). Outra vez, isto é um indicativo de que diferentes processos ocorrem no solo com braquiária comparado com o pousio. Para a titulação com ácido cítrico no solo sem aplicação de P, as reações exotérmicas parecem ser associadas com a liberação de P, enquanto que no solo em pousio a liberação de P parece ser mais associada com reações endotérmicas.

O maior grau de reações exotérmicas e endotérmicas produzidas pela titulação com ácido cítrico nos solos com braquiária e pousio, respectivamente, é um indicativo de que há mais complexação de Al (e potencialmente mais Fe) com citrato na solução do solo com pousio (reações endotérmicas), enquanto que o solo com braquiária possui maior adsorção do citrato (reações exotérmicas). O solo com braquiária pode ter menor complexação do Al com citrato na solução devido à presença de compostos orgânicos que já devem ter o Al e o Fe complexados em si (Berggren e Mulder, 1995). É importante considerar que a troca de ligantes do citrato com os óxidos de Fe e Al podem liberar o P na solução (Geelhoed et al., 1998; Jones e Brassington, 1998). Outra reação exotérmica que poderia liberar P na solução, e adicionalmente Fe e Al, é a dissolução de fosfatos de Fe e Al, a qual pode ser também promovida pelo citrato. As reações endotérmicas associadas com a liberação de P no solo em pousio pode ter sido associada com a dissolução de fosfatos de Ca, a qual se sabe que é endotérmica (Penn e Zhang, 2010). Isto é plausível desde que a titulação com citrato no solo em pousio liberou quase o dobro de Ca em comparação com o solo com braquiária. Devido à acidez da solução com ácido cítrico (pH 5,5), o fosfato de Ca pode ser facilmente dissolvido na solução, já que a solubilidade dos minerais de fosfato de Ca aumenta com a redução do pH. Tem sido mostrado que ácidos orgânicos aumentam a dissolução de fosfatos de Ca, e óxidos de Fe e Al ligados a fosfatos (Earl et al., 1979; Fox et al., 1990). Contudo, isto levanta a questão do porquê

o solo com pousio pode ter mais dissolução de fosfatos de Ca, enquanto que o solo com braquiária pode ter mais troca de ligantes com citrato. Uma hipótese é que desde que o solo com braquiária contém mais matéria orgânica do que o solo em pousio (Tabela 2), isto pode ter promovido mais superfícies para troca de ligações com o citrato sem necessariamente reduzir a adsorção do P nativo para a solução do solo. A baixa disponibilidade de P determinada pela titulação com ácido cítrico e a menor absorção de P pelas plantas de milho podem estar relacionadas com as formas de P_o no solo, potencialmente fitatos, os quais possuem baixa disponibilidade e solubilidade (Berg e Joern, 2006; Giaveno et al., 2010). Compostos de fitato com Fe e Al, são particularmente insolúveis comparados com fitatos de Ca e Na (Dao, 2003; 2004; He et al., 2006). Além disso, hidróxidos de metais amorfos podem adsorver e proteger o fitato da hidrólise enzimática (Dao, 2004). Esta forma de P_o é extraída com NaOH (Warren et al., 2008). É importante notar que a fração P_o-NaOH 0,1 foi significativamente maior no solo cultivado com braquiária do que no pousio (Figura 11a). Com relação à dissolução do fosfato de Ca, apesar da fração P-HCl não apresentar diferenças, sugerindo que os solos com braquiária e pousio não possuem diferenças para o teor de fosfatos de Ca, talvez o impacto do cultivo da braquiária no P do solo tenha resultado na transferência do P para outros sítios não associados com Ca.

Os solos com braquiária não só liberam menos P, quanto também possuem maior capacidade de adsorver o P do que o solo em pousio, o que também ajuda a explicar as observações feitas sobre a menor absorção de P pelo milho no solo cultivado com braquiária, mesmo apresentando maior concentração de P extraído com resina. O menor padrão exotérmico obtido após as titulações com NaH_2PO_4 no solo em pousio (Figuras 10c e 10g) são um sinal de uma menor adsorção de P nas partículas do solo em comparação com o solo cultivado com braquiária (Figuras 10a e 10e). Quando o NaH_2PO_4 é titulado em solos ácidos com minerais de carga variáveis, as reações são inicialmente bastante exotérmicas, e diminuem com cada titulação subsequente, representando a redução da troca de ligantes com o fosfato uma vez que os sítios de adsorção do solo se torna saturado com P (Penn e Warren, 2009; Lyngsie et al., 2014; Penn et al., 2014). Se o pH é baixo e o P é adicionado em quantidades suficientes, as reações endotérmicas serão desenvolvidas, indicando assim a precipitação dos fosfatos de Fe e Al (Penn e Zhang, 2010; Lyngsie et al., 2014). O solo cultivado com braquiária sem aplicação de P titulado com NaH_2PO_4

exibe uma alta capacidade de adsorção de P, evidenciado pelas reações exotérmicas durante todas as 25 titulações (Figura 10a), e um menor grau de reações exotérmicas quando houve aplicação de P (Figura 10e). Isto parece ser uma consequência dos minerais de carga variável mais saturados com P no solo que recebeu aplicação de fertilizantes fosfatados do que no solo sem aplicação destes fertilizantes. Com respeito às diferenças no balanço térmico com as titulações de P nos solos com braquiária e pousio, o maior teor de MOS no solo com braquiária pode ter aumentado a habilidade dos óxidos de Fe e Al em adsorver o P, o que explica o porquê que a capacidade de adsorção de P foi maior após a braquiária. Ainda, enquanto que o solo em pousio parece ser capaz de liberar mais fosfatos de Ca para a solução com a adição de citrato do que o solo com braquiária, esta dissolução pode também ter ocorrido no solo com braquiária; porém, este P solubilizado pode ter sido imediatamente adsorvido nos minerais de Fe e Al, tornando-se novamente indisponível. Isto é suportado pelo grande grau de troca de ligações de P (reações exotérmicas) observado na titulação de P no solo com braquiária, o que também ajuda a explicar a menor absorção de P pelo milho em solo previamente cultivado com braquiária.

Alguns pesquisadores tem observado que a MOS e AO podem inibir a cristalização de óxidos de Fe e Al, e promover a formação de óxidos não cristalinos, com maior área superficial e porosidade (Singer e Huang, 1990; Violante e Huang, 1992), aumentando a adsorção de P nos minerais de Al (Borggaard et al., 1990). De acordo com Borggaard et al. (1990), a MOS afeta a adsorção de P indiretamente pela inibição da cristalização dos óxidos de Al, resultando em óxidos pouco cristalinos com alta capacidade de adsorção de P. Hui et al. (2015) também observaram um aumento na adsorção de P em complexos de Fe e ácidos húmicos, principalmente em pH alto. Analisando solos arenosos, Debicka et al. (2016) demonstraram um aumento na dessorção de P após a remoção da MOS. A maior adsorção de P, menor dessorção de P, e redução da absorção de P pelo milho em solo previamente cultivado com braquiária versus o solo em pousio pode ser em partes devido ao maior conteúdo de MOS no solo com braquiária, que interage com a grande quantidade de sesquióxidos no solo deste presente estudo.

2.4.3 Mudanças nos sítios de fósforo no solo com o cultivo de milho

Espera-se que ocorra uma grande redução no teor de P no solo rizosférico devido à baixa concentração de P na solução do solo e à pequena contribuição do fluxo de massa para a absorção de P pela planta, gerando um gradiente de concentração, uma força que governa a difusão do P em direção as raízes. Mudanças no teor de P na rizosfera ocorrem em função da demanda da planta e o suprimento do P do solo (Jungk et al., 2002). Como esperado, a diferença na concentração de P após o crescimento do milho foi evidente para o P-RTA tanto no solo com braquiária quanto em pousio. Em geral, o P_i extraído com NaOH 0,5 mol L^{-1} e $NaHCO_3$ foi biodisponível, como observado nas reduções destas frações na rizosfera do milho. Similarmente, o P extraído nas frações P-Residual, P-HCl, e o P_i-NaOH 0,1 e 0,5, foi também biodisponível ou transferido para outros sítios.

O P_o extraído com $NaHCO_3$ e NaOH 0,1 mol L^{-1} não foi biodisponível, enquanto que o P_i extraído por estes mesmos extratores foi biodisponível para o milho. Além disso, a redução destas frações de P_o na rizosfera do milho foi menor no solo previamente cultivado com braquiária do que no pousio. Isto suporta a prévia observação que o solo cultivado com braquiária parece adsorver e dessorver o P de uma forma diferente do solo em pousio, por razões relacionadas com os teores de MOS. O impacto da MOS na dinâmica do P neste estudo parece ser devido a maior quantidade de P_o recalcitrante, provavelmente fitatos protegidos pelos sesquióxidos (afetando a dessorção), que são extraídos com NaOH e $NaHCO_3$, assim como as mudanças nas superfícies dos minerais devido às interações da MOS com os óxidos (afetando a adsorção). Isto pode ajudar a elucidar a menor absorção de P pelo milho em solo previamente cultivado com braquiária como um reflexo da menor disponibilidade de P devido à baixa dessorção e maior adsorção de P neste solo. Mais estudos são necessários para avaliar a extração do P com resina e citrato como indicadores da disponibilidade de P, e para determinar exatamente quais sítios de P no solo estão sendo acessadas por cada um destes métodos.

2.5 Conclusões

O cultivo de braquiária ruziziensis reduziu a biodisponibilidade de P no solo em comparação com o solo mantido em pousio durante a entressafra de soja, mesmo com a maior extração de P com a resina sendo observada em solo com braquiária. Por outro lado, o P do solo extraído com citrato, um composto orgânico geralmente liberado pelas raízes para aumentar a disponibilidade de P, foi melhor correlacionado com a absorção de P pelo milho. A calorimetria de titulação isotérmica foi uma ferramenta útil para a estimativa da disponibilidade de P. No geral, o solo cultivado com braquiária apresenta um maior potencial para a troca de ligantes com citrato e P. A partir da menor dessorção de P e maior adsorção de P observada por meio da calorimetria, em conjunto com a extração com citrato e fracionamento do P do solo rizosférico, sugere-se que o solo previamente cultivado com braquiária pode apresentar compostos menos solúveis de fitato de Fe e Al, e potencialmente mais sítios de adsorção, devido à interação com a maior quantidade de MOS. O solo em pousio pode ser capaz de liberar fosfatos de Ca para a solução mais rapidamente, com menor re-adsorção do P com óxidos de Fe e Al.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D. S.; PENN, C. J.; ROSOLEM, C. A. Assessment of phosphorus availability in soil cultivated with ruzigrass. **Geoderma**, v. 312, p. 64-73, 2018a.

ALMEIDA, D. S. et al. Soil phosphorus bioavailability and soybean grain yield impaired by ruzigrass. **Agronomy Journal**, v. 110, n. 2, p. 1-10, 2018b.

ALMEIDA, D. S.; ROSOLEM, C. A. Ruzigrass grown in rotation with soybean increases soil labile phosphorus. **Agronomy Journal**, v. 108, n. 6, p. 1-9, 2016.

ALMEIDA, J. A.; TORRENT, J.; BARRÓN, V. Cor de solo, formas do fósforo e adsorção de fosfatos em Latossolos desenvolvidos de basalto do extremo-sul do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 985-1002, 2003.

ANGHINONI, I.; BALIGAR, V. C.; WRIGHT, R. J. Phosphorus sorption isotherm characteristics and availability parameters of Appalachian acidic soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 27, n. 9-10, p. 2033-2048, 1996.

BERG, A. S.; JOERN, B. C. Sorption dynamics of organic and inorganic phosphorus compounds in soil. **Journal of Environmental Quality**, v. 35, n. 5, p. 1855-1862, 2006.

BERGGREN, D.; MULDER, J. The role of organic matter in controlling aluminum solubility in acidic mineral soil horizons. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 59, n. 20, p. 4167-4180, 1995.

BODDEY, R. M.; RAO, I. M.; THOMAS, R. J. Nutrient cycling and environmental impact of Brachiaria pastures. In: MILES, J., et al (Ed.). **Brachiaria: Biology, Agronomy and Improvement**. Cali/Brasília: CIAT/EMBRAPA, 1996. p.72-86.

BORGGAARD, O. K. et al. Influence of organic matter on phosphate adsorption by aluminium and iron oxides in sandy soils. **Journal of Soil Science**, v. 41, n. 3, p. 443-449, 1990.

CAMPOS, M.; ANTONANGELO, J. A.; ALLEONI, L. R. F. Phosphorus sorption index in humid tropical soils. **Soil and Tillage Research**, v. 156, p. 110-118, 2016.

CHEN, C. R. et al. Effects of afforestation on phosphorus dynamics and biological properties in a New Zealand grassland soil. **Plant and Soil**, v. 220, n. 1-2, p. 151-163, 2000.

CONDRON, L. M.; GOH, K. M. Effects of long-term phosphatic fertilizer applications on amounts and forms of phosphorus in soils under irrigated pasture in New Zealand. **Journal of Soil Science**, v. 40, n. 2, p. 383-395, 1989.

CROSS, A. F.; SCHLESINGER, W. H. A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. **Geoderma**, v. 64, n. 3, p. 197-214, 1995.

DAO, T. H. Polyvalent cation effects on-inositol hexa dihydrogenphosphate enzymatic dephosphorylation in dairy wastewater. **Journal of Environmental Quality**, v. 32, n. 2, p. 694-701, 2003.

DAO, T. H. Organic ligand effects on enzymatic dephosphorylation of-inositol hexa dihydrogenphosphate in dairy wastewater. **Journal of Environmental Quality**, v. 33, n. 1, p. 349-357, 2004.

DEBICKA, M. et al. Organic matter effects on phosphorus sorption in sandy soils. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 62, n. 6, p. 840-855, 2016.

DICK, W. A.; TABATABAI, M. A. Determination of orthophosphate in aqueous solutions containing labile organic and inorganic phosphorus compounds. **Journal of Environmental Quality**, v. 6, n. 1, p. 82-85, 1977.

EARL, K. D.; SYERS, J. K.; MCLAUGHLIN, J. R. Origin of the effects of citrate, tartrate, and acetate on phosphate sorption by soils and synthetic gels. **Soil Science Society of America Journal**, v. 43, n. 4, p. 674-678, 1979.

ESTEVES, J. A. D. F. **Substituição de fosfato solúvel por reativo em soja cultivada em semeadura direta em função de níveis de fósforo e modo de aplicação**. 2004. 119 (Doutorado em Agronomia/Agricultura). Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu.

FOX, T. R.; COMERFORD, N. B.; MCFEE, W. W. Phosphorus and aluminum release from a spodic horizon mediated by organic acids. **Soil Science Society of America Journal**, v. 54, n. 6, p. 1763-1767, 1990.

GATIBONI, L. C. et al. Fracionamento químico das formas de fósforo do solo: Uso e limitações. In: ARAÚJO, A. P.; ALVES, B. J. R. (Ed.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.8, 2013. p.141-188.

GEELHOED, J. S.; HIEMSTRA, T.; VAN RIEMSDIJK, W. H. Competitive interaction between phosphate and citrate on goethite. **Environmental Science & Technology**, v. 32, n. 14, p. 2119-2123, 1998.

GIAVENO, C. et al. Interaction of phytases with minerals and availability of substrate affect the hydrolysis of inositol phosphates. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 3, p. 491-498, 2010.

HE, Z. et al. Preparation and FT–IR characterization of metal phytate compounds. **Journal of Environmental Quality**, v. 35, n. 4, p. 1319-1328, 2006.

HEDLEY, M. J.; STEWART, J. W. B.; CHAUHAN, B. S. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. **Soil Science Society of America Journal**, v. 46, n. 5, p. 970-976, 1982.

HINSINGER, P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: A review. **Plant and soil**, v. 237, n. 2, p. 173-195, 2001.

HUI, W. et al. Adsorption of phosphate onto ferrihydrite and ferrihydrite-humic acid complexes. **Pedosphere**, v. 25, n. 3, p. 405-414, 2015.

JONES, D. L.; BRASSINGTON, D. S. Sorption of organic acids in acid soils and its implications in the rhizosphere. **European Journal of Soil Science**, v. 49, n. 3, p. 447-455, 1998.

JONES, D. L.; DARRAH, P. R. Role of root derived organic acids in the mobilization of nutrients from the rhizosphere. **Plant and soil**, v. 166, n. 2, p. 247-257, 1994.

JONES, D. L.; KOCHIAN, L. V. Aluminium-organic acid interactions in acid soils. **Plant and Soil**, v. 182, n. 2, p. 221-228, 1996.

JUNGK, A. O. et al. Dynamics of nutrient movement at the soil-root interface. In: KAFKAFI, U., et al (Ed.). **Plant roots: The hidden half**. New York: Marcel Dekker, 2002. p.587-616.

LYNGSIE, G. et al. Phosphate sorption by three potential filter materials as assessed by isothermal titration calorimetry. **Journal of Environmental Management**, v. 143, p. 26-33, 2014.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, A. S. **Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações**. 2nd. Piracicaba: Potafós, 1997. 319 p.

MERLIN, A.; HE, Z. L.; ROSOLEM, C. A. Ruzigrass affecting soil-phosphorus availability. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 12, p. 1583-1588, 2013.

MERLIN, A.; HE, Z. L.; ROSOLEM, C. A. Congo grass grown in rotation with soybean affects phosphorus bound to soil carbon. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 888-895, 2014.

MERLIN, A.; ROSOLEM, C. A.; HE, Z. L. Non-labile phosphorus acquisition by *Brachiaria*. **Journal of Plant Nutrition**, v. 39, n. 9, p. 1319-1327, 2015.

MILTENBURG, J. C.; GOLTERMAN, H. L. The energy of the adsorption of o-phosphate onto ferric hydroxide. **Hydrobiologia**, v. 364, n. 1, p. 93-97, 1997.

MURPHY, J.; RILEY, J. P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 27, p. 31-36, 1962.

OLIBONE, D.; ROSOLEM, C. A. Phosphate fertilization and phosphorus forms in an Oxisol under no-till. **Scientia Agricola**, v. 67, n. 4, p. 465-471, 2010.

PAVINATO, P. S.; ROSOLEM, C. A. Disponibilidade de nutrientes no solo: Decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 911-920, 2008.

PENN, C. et al. Application of isothermal calorimetry to phosphorus sorption onto soils in a flow-through system. **Soil Science Society of America Journal**, v. 78, n. 1, p. 147, 2014.

PENN, C. J.; WARREN, J. G. Investigating phosphorus sorption onto kaolinite using isothermal titration calorimetry. **Soil Science Society of America Journal**, v. 73, n. 2, p. 560, 2009.

PENN, C. J.; ZHANG, H. Isothermal titration calorimetry as an indicator of phosphorus sorption behavior. **Soil Science Society of America Journal**, v. 74, n. 2, p. 502, 2010.

RAIJ, B. et al. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. 285 p.

RAIJ, B.; QUAGGIO, J. A.; DA SILVA, N. M. Extraction of phosphorus, potassium, calcium, and magnesium from soils by an ion-exchange resin procedure. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 17, n. 5, p. 547-566, 1986.

RHUE, R. D.; APPEL, C.; KABENGI, N. Measuring surface chemical properties of soil using flow calorimetry. **Soil Science**, v. 167, n. 12, p. 782-790, 2002.

SANTOS, H. G. et al. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 376 p.

SHARPLEY, A. N. Soil phosphorus dynamics: Agronomic and environmental impacts. **Ecological Engineering**, v. 5, n. 2, p. 261-279, 1995.

SINGER, A.; HUANG, P. M. Effects of humic acid on the crystallization of aluminum hydroxides. **Clays and Clay Minerals**, v. 38, n. 1, p. 47-52, 1990.

SPARKS, D. L. **Environmental soil chemistry**. San Diego: Academic press, 2003. 352 p.

VEITH, J. A.; SPOSITO, G. On the use of the Langmuir equation in the interpretation of “adsorption” phenomena. **Soil Science Society of America Journal**, v. 41, n. 4, p. 697-702, 1977.

VIOLANTE, A.; HUANG, P. M. Effect of tartaric acid and pH on the nature and physicochemical properties of short-range ordered aluminum precipitation products. **Clays and Clay Minerals**, v. 40, p. 462-462, 1992.

WARREN, J. G. et al. The impact of aluminum addition on organic P transformations in poultry litter and litter-amended soil. **Journal of Environmental Quality**, v. 37, n. 2, p. 469-476, 2008.

WENZL, P. et al. The high level of aluminum resistance in signalgrass is not associated with known mechanisms of external aluminum detoxification in root apices. **Plant Physiology**, v. 125, n. 3, p. 1473-1484, 2001.

WU, C. et al. Calorimetric investigations of Al3+ (aq), Al (OH) 4-(aq), and aluminium-citrate complexes at 298.15 K. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 75, n. 8, p. 1110-1113, 1997.

CAPÍTULO 3 – CICLAGEM DE INOSITOL FOSFATOS COM O CULTIVO DE BRAQUIÁRIA RUZIZIENSIS

Resumo

Informações sobre a dinâmica do fósforo no solo são essenciais para o entendimento dos efeitos do uso de culturas de cobertura, particularmente para culturas de cobertura selecionadas para aumentar a disponibilidade de fósforo. A braquiária ruziziensis (*Urochloa ruziziensis*) é uma espécie usada como cultura de cobertura que exsuda grandes quantidades de ânions de ácidos orgânicos por suas raízes, e espera-se que seja capaz de mobilizar formas de fósforo orgânico do solo, tais como os inositóis fosfatos. Para investigar isso, foi estudado o fósforo orgânico do solo em um experimento de campo de longa duração, com tratamentos consistindo no uso de braquiária ruziziensis e pousio durante a entressafra de soja (*Glycine max*), com ou sem aplicação de fertilizantes fosfatados. O fósforo orgânico foi extraído do solo, seguido pela quantificação de 1) fósforo orgânico hidrolisável com fitase por colorimetria, e 2) *mio*-inositol hexafosfato por oxidação com hipobromito e separação com cromatografia líquida de alta performance. A produtividade de matéria seca de braquiária aumentou cerca de 80% com aplicação de fósforo e a matéria orgânica do solo aumentou cerca de 20% com o cultivo de braquiária. O uso de braquiária resultou em redução da concentração de fósforo lábil por fitase e *mio*-inositol hexafosfato, mas apenas no solo que recebeu aplicações de fósforo. Também foi observado um aumento de inositóis fosfatos não identificados no solo com braquiária e com aplicação de fósforo. Possivelmente, a degradação de inositóis fosfatos no solo com aplicação de fósforo e cultivado com braquiária se deve à maior produtividade da braquiária, aumentando a liberação de exsudados radiculares que solubilizam os inositóis fosfatos e promovendo a decomposição destes por fitases. O cultivo de braquiária ruziziensis em sistema de rotação de culturas promove a ciclagem de formas orgânicas recalcitrantes de fósforo, mas apenas quando a concentração de fósforo no solo é elevada a níveis suficientes para garantir uma alta produtividade da braquiária.

Este terceiro capítulo está publicado na Biology and Fertility of Soils (ISSN: 1432-0789), disponível em: https://doi.org/10.1007/s00374-018-1316-3.

3.1 Introdução

O cultivo de braquiária ruziziensis [*Urochloa ruziziensis* (R. Germ. e C.M. Evrard) Morrone e Zuloaga] como cultura de cobertura na entressafra tem sido bastante adotado como uma prática conservacionista aliada ao sistema semeadura direta (SSD), capaz de promover a cobertura do solo ao longo de toda a entressafra, reduzir a erosão do solo e controlar a população de plantas daninhas (Franzluebbers et al., 2014). As gramíneas do gênero Urochloa (syn. Brachiaria) possuem fotossíntese do tipo C4 e são espécies bastante adaptadas à baixa disponibilidade de fósforo (P) devido à alta eficiência de absorção deste nutriente (Rao et al., 1996). De acordo com Merlin et al. (2015), a braquiária pode solubilizar formas recalcitrantes de P ligados ao ferro (Fe) e alumínio (Al). A absorção de P de formas não-lábeis pela braquiária podem estar relacionadas com seu extenso sistema radicular e habilidade das raízes em exsudar ânions de ácidos orgânicos (AO), como o citrato e oxalato (Wenzl et al., 2001; Louw-Gaume et al., 2017). A alta exsudação de AO das raízes de braquiária pode ser também capaz de solubilizar formas de P orgânico (P_o) adsorvidas nas partículas do solo (Martin et al., 2004).

O P_o representa cerca de 30 a 65% do P total do solo, é acumulado com a morte de plantas e microorganismos (Harrison, 1987), correspondendo assim à uma importante fração do P total do solo (George et al., 2017). Os compostos de P_o são classificados em ésteres de ortofosfato, fosfonatos, anidridos de ortofosfato e fosfolipídios, de acordo com a natureza das ligação com o P (Condron et al., 2005). Os inositóis fosfatos são ortofosfatos monoésteres e são a forma predominante de P_o em diversos solos (Turner et al., 2002; Shears e Turner, 2007), O *mio*-inositol hexafosfato (também conhecido como IP_6, $InsP_6$ ou fitato) é um dos nove possíveis estereoisômeros de inositol fosfato, com todos os seis grupos hidroxilas esterificados com fosfatos (Shears e Turner, 2007). Dentre todos os compostos de P_o no solo, o *mio*-inositol hexafosfato tem a maior afinidade às partículas do solo e a menor biodisponibilidade (Shang et al., 1996; Martin et al., 2004), o que resulta em acúmulo deste composto no solo (Giaveno et al., 2010). A alta estabilidade do *mio*-inositol hexafosfato no solo se deve à capacidade dos seus seis grupos fosfatos de se ligarem com cátions e sítios de adsorção do solo simultaneamente (Shang et al., 1996; Celi et al., 1999). A adsorção dos inositóis fosfatos tem sido observada em vários componentes do solo, como os óxidos de Fe e Al, caulinita, montmorilonita e matéria orgânica do solo (MOS) (Celi e Barberis, 2007; Karathanasis e Shumaker, 2009).

De acordo com Stevenson e Cole (1999), a especiação do P e os fatores controlando o ciclo do P no solo são afetados pela aplicação de fertilizantes fosfatados, propriedades do solo, concentração de MOS e pelo uso e manejo do solo. O quanto que os inositóis fosfatos acumulam no solo também depende da presença de fitases, condições ambientais (pH, temperatura e reações de sorção), ativação/inibição enzimática, e solubilidade das fitases (Turner et al., 2002; Menezes-Blackburn et al., 2013). Fitases são um grupo especial de fosfatases que podem iniciar a desfosforilação do *mio*-inositol haxafosfato (Shears e Turner, 2007). Nos casos em que é presente a atividade da fitase no solo, o P lábil por fitase ($P_{lábil\text{-}fitase}$) pode ter sua concentração reduzida e se tornar disponível para as plantas (Yadav e Tarafdar, 2004). Vários microorganismos do solo podem acessar os inositóis fosfatos, sendo este um importante fator no ciclo do P e também um dos mecanismos pelo qual as planta adquirem o P de formas recalcitrantes de P_o (Harrison, 1987; Richardson et al., 2001).

Entender as complexas relações que afetam a biodisponibilidade de P no solo é um desafio, mas também uma grande oportunidade de desenvolver tecnologias para reduzir o acúmulo de formas recalcitrantes de P_o no solo (Menezes-Blackburn et al., 2017). A maior parte das informações sobre a composição do P_o é proveniente do uso da técnica de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{31}P (RMN ^{31}P), desde que esta técnica resulta em alta resolução espectral, e possibilita a identificação de várias formas de P (Cade-Menun, 2017). O uso da cromatografia líquida de alta performance (HPLC) para identificar e quantificar formas de P_o no solo tem sido proposto como uma técnica alternativa, potencialmente mais sensível e barata do que RMN ^{31}P. Espinosa et al. (1999) utilizaram HPLC para identificar e quantificar formas de P_o em lixiviados do solo; contudo, este método não possibilitou alta resolução e foi inadequado para extratos do solo com grande quantidade de impurezas, como os extratos de solo obtidos pela extração com NaOH-EDTA, comumente usados para espectroscopia de RMN ^{31}P. Turner e Richardson (2004) recomendaram a oxidação com hipobromito dos extratos de solo obtidos com NaOH-EDTA para melhorar a resolução e detecção de formas de inositóis fosfatos. A oxidação com hipobromito digere qualquer material orgânico que não seja inositol hexafosfato, eliminando os interferentes orgânicos na separação dos inositóis fosfatos por HPLC (Irving e Cosgrove, 1981).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de longo prazo da rotação de soja com braquiária ruziziensis e aplicação de fertilizante fosfatado na dinâmica de formas de P_o, principalmente o *mio*-inositol hexafosfato. Especificamente, foi testada a hipótese de que a degradação de inositóis fosfatos é afetada em solo cultivado com braquiária, uma vez que esta espécie promove uma grande exsudação de AO, os quais podem contribuir na solubilização do P_o e proliferação microbiana.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Caracterização da área experimental e tratamentos

Um experimento de longa duração em campo estabelecido em 2006 foi avaliado por dois anos (2014 e 2015). O experimento está localizado em Botucatu, São Paulo, Brasil (22°50′00″ S; 48°25′31″ O; 806 m de altitude), em uma área que tem sido conduzida sob sistema semeadura direta (SSD) desde 1998. O solo é um Latossolo Vermelho distroférrico (Santos et al., 2006), de textura média, com 670 g kg^{-1} de areia e 210 g kg^{-1} de argila. A partir de 2006, tem sido cultivado soja [*Glycine max* (L.) Merrill] em rotação com braquiária ruziziensis [*Urochloa ruziziensis* (R. Germ. e C.M. Evrard) Morrone e Zuloaga] ou pousio durante a entressafra, com e sem aplicação de 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 na forma de superfosfato triplo (SFT) no sulco de semeadura da soja. O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados no esquema fatorial 2 × 2, com quatro repetições. As parcelas tiveram as seguintes medidas: 8 m de comprimento × 5 m de largura.

A braquiária foi semeada logo após a colheita da soja, em abril de 2014 e 2015. Houve o crescimento de vegetação espontânea nas parcelas em pousio. Contudo, o crescimento de plantas daninhas foi aleatório e esparso, com insignificante produção de matéria seca no final do período de entressafra. Amostras da parte aérea de braquiária foram coletadas pouco antes da dessecação para determinar o peso de matéria seca. Quatro sub-amostras foram aleatoriamente coletadas em cada parcela utilizando um quadro com 50 × 50 cm e combinadas em uma única amostra por parcela. As amostras foram secas em estufa de aeração forçada a 60ºC por 72 horas, e então pesadas.

Amostras de solo foram coletadas nas seguintes profundidades: 0–5, 5–10, 10–20 e 20–40 cm, em novembro de 2014 e 2015, após a dessecação da braquiária. Seis sub-amostras de solo foram aleatoriamente coletadas de cada parcela usando uma sonda de 50 mm de diâmetro, e foram combinadas em uma única amostra por

profundidade por parcela. As amostras de solo foram secas ao ar e peneiradas em malha de 2 mm para posterior análise química. Foram determinados o pH do solo em suspensão com cloreto de cálcio 0,01 mol L^{-1} (1:2,5, solo/solução), acidez potencial (H+Al), capacidade de troca de cátions (CTC) e matéria orgânica do solo (MOS), de acordo com Raij et al. (2001). O P disponível no solo foi determinado pelo método da resina (P_{resina}) (Raij et al., 1986). A caracterização química do solo está apresentada na Tabela 8.

Tabela 8 – Características químicas do solo em quatro profundidades de acordo com a aplicação dos tratamentos com e sem aplicação de P, em 2014.

Profundidade	pH[a]	P_{resina}[b]	H+Al[c]	CTC[d]
cm		mg dm^{-3}	$mmol_c$ dm^{-3}	
	Sem aplicação de P			
0–5	6,2	14	13	56
5–10	5,4	5	18	42
10–20	4,8	5	28	37
20–40	4,3	3	39	46
	Com aplicação de P			
0–5	6,4	26	12	56
5–10	5,7	16	18	45
10–20	4,6	7	31	42
20–40	4,3	3	39	44

[a] pH do solo em solução de cloreto de cálcio.
[b] Fósforo extraído com resina.
[c] Acidez potencial.
[d] Capacidade de troca de cátions.

3.2.2 Extração do fósforo do solo

O P do solo foi extraído com hidróxido de sódio (NaOH) 0,25 mol L^{-1} e etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 0,05 mol L^{-1} (NaOH-EDTA). A solução de NaOH-EDTA é um extrator comumente utilizado para análise de P_o do solo e tem sido sugerido como um extrator padrão neste tipo de análise (Cade-Menun e Liu, 2014). Para a extração do P, 1,0 g de solo foi colocado em tubo falcon com 10 mL de NaOH-EDTA, e agitado por 16 h em agitador horizontal de movimento helicoidal. O extrato foi então filtrado usando papel de filtro Whatman nº 1 e submetido à determinação de P total (P_t), P inorgânico (P_i) e P orgânico (P_o). A concentração de P_i foi determinada imediatamente após a extração. O P total foi determinado após a digestão em autoclave por 1 h a 124ºC e 103 kpa, com persulfato de potássio e ácido sulfúrico. O P_t e o P_i foram determinados com o método colorimétrico usando o verde de malaquita (Van Veldhoven e Mannaerts, 1987). A diferença entre o P_t e o P_i corresponde ao P não reativo com molibdato, considerado aqui como P_o.

3.2.3 Fósforo lábil por fitase

O P lábil por fitase ($P_{lábil\text{-}fitase}$) foi determinado usando uma fitase de *Aspergillus niger* comercialmente disponível (Natuphos, EC 3.1.3.8; BASF SE, Ludwigshafen, Alemanha). A quantidade de fitase utilizada foi o suficiente para obter uma atividade enzimática de 50 nKat mL^{-1}. Resumidamente, 100 µL de extrato do solo foram combinados com 100 µL de fitase (100 nKat mL^{-1}) diluída em solução tampão (ácido acetato/acético 50 mmol L^{-1}, pH 5,5) e incubado a 37ºC por 16 h. O P liberado durante a incubação com fitase foi quantificado com método do verde de malaquita. O P_o hidrolisável com fitase foi deduzido pela diferença do P_i determinado após a incubação das amostras com fitases e do P_i determinado em amostras incubadas com fitase desnaturada (autoclavada por 1 h a 124ºC e 103 kpa).

3.2.4 Oxidação com hipobromito

A oxidação com hipobromito foi realizada de acordo com Irving e Cosgrove (1981), seguindo as recomendações descritas por Turner et al. (2012), nos mesmos extratos de solo obtidos após a extração com NaOH-EDTA. Antes da oxidação com hipobromito, o pH do extrato foi elevado a 13, pela adição de 2 g de NaOH sólido em tubo de digestão contendo 10 mL de extrato do solo. Os tubos de digestão foram resfriados em banho de gelo. Em seguida, 1 mL de bromo puro, 99,99% (Sigma-Aldrich, Missouri, EUA), foi adicionada no extrato do solo. Após 1 h, o extrato foi fervido até 140ºC por 5 min até completar a reação do bromo. Para eliminar todo o bromo do extrato, o pH foi reduzido adicionando 10 mL de HCl 10 mol L^{-1}. Após toda a volatilização do bromo, o pH foi ajustado a 8,5 pela adição de 6 mL de NaOH 10 mol L^{-1}. O volume final foi ajustado em 30 mL com água ultrapura Milli-Q (MQ) (Millipore, Massachusetts, EUA). O fosfato no extrato foi precipitado com bário, pela adição de 15 mL de acetato de bário (10%) e 15 mL de etanol (50%). A suspensão foi então centrifugada a 4000 × g por 10 min. O supernadante foi descartado, e o precipitado foi lavado com 30 mL de etanol (50%), centrifugado, e o supernadante foi descartado. O precipitado de bário com as formas de P restantes após a digestão com hipobromito foi ressuspendido em 20 mL de água. Para recuperar as formas de P no extrato, 20 mL de resina de troca catiônica Amberlite IR120 foi adicionado no extrato, e este foi agitado por 16 h. Finalmente, o extrato contendo as formas de P restantes após a digestão foi filtrado em filtro de seringa (0,2 µm), e o volume final das amostras foi ajustado a 35 mL. Os extratos tiveram o pH neutralizado e a concentração de P_i, P_t e

$P_{lábil\text{-}fitase}$ foram determinados como descrito anteriormente. Devido à dificuldade em executar esse protocolo de análise e ao fato de terem sido observadas diferenças até 10 cm de profundidade, apenas amostras de solo da camada de 0–10 cm foram submetidas à oxidação com hipobromito.

3.2.5 Especiação do fósforo

Os extratos obtidos com a oxidação com hipobromito foram separados usando cromatografia líquida de alta precisão (HPLC), para determinar as formas de P, de acordo com o método usado por Espinosa et al. (1999). A separação foi realizada usando o sistema de HPLC Agilis série 1100 (Agilent Technologies, Califórnia, EUA), com uma coluna Agilent IonoSpher 5 A (250 mm de comprimento, e diâmetro interno de 4,6 mm). Os extratos tiveram o pH ajustado para 5,5, foram diluídos em água MQ (1:10), e uma alíquota de 30 µL do extrato foi injetada na coluna para separação por HPLC. Utilizando uma solução de cloreto de sódio (NaCl), o gradiente linear iônico foi aumentado de 0,11 mol L^{-1} para 0,75 mol L^{-1} em um intervalo de 160 min, com a concentração de EDTA e MES constante, 0,5 mmol L^{-1} e 50 mmol L^{-1}, respectivamente. As soluções tampão tiveram o pH ajustado para 5,5. A vazão foi mantida em 0,5 mL min^{-1}. Um coletor de frações foi usado para coletar 1 mL da amostra eluída a cada 2 min em frascos de vidro, obtendo-se assim uma série de amostras eluídas. As amostras eluídas foram então usadas para quantificação do P_t, P_i, e $P_{lábil\text{-}fitase}$ da mesma forma descrita anteriormente, e os valores obtidos foram plotados de acordo com o tempo de eluição. Para confirmar o tempo de eluição dos picos de cada espécie de P, uma solução com 100 µmol L^{-1} de fosfato de sódio e 100 µmol L^{-1} de *mio*-inositol hexafosfato de sódio (Sigma-Aldrich, Missouri, EUA) foi utilizada como padrão.

3.2.6 Análise estatística

Os dados foram primeiramente submetidos a análise de homogeneidade de variância usando o teste de Levene. Então, os resultados foram submetidos a análise de variância pelo teste F ($p < 0,05$) considerando o delineamento em blocos inteiramente aleatorizados no esquema fatorial 2 × 2, com quatro repetições. As médias dos tratamentos foram comparadas com o teste t de Student ($p < 0,05$). Todas as análises foram realizadas utilizando o software SAS, versão 9.4 (SAS Inst., Carolina do Norte, EUA).

3.3 Resultados

A produtividade da braquiária no solo com aplicação de P foi praticamente o dobro da obtida sem aplicação de P, tanto em 2014 quanto em 2015 (Figura 13). Porém, a produtividade em 2014 foi menor do que em 2015, devido à falta de chuvas durante o período de entressafra em 2014.

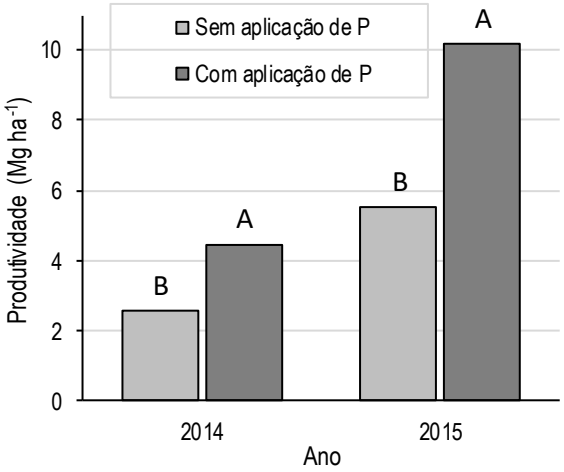

Figura 13 – Produtividade de braquiária ruziziensis no final do período de entressafra em 2014 e 2015, em função da aplicação de fósforo (P). Letras diferentes indicam diferenças significantes entre tratamentos de acordo com o teste t de Student (p < 0,05).

Em média, 40% do P_t extraído com NaOH-EDTA refere-se ao P_o, nas amostras de até 20 cm de profundidade do solo. Apesar do maior acúmulo de MOS após o cultivo de braquiária (Tabela 9), a concentração de P_o não foi afetada pela braquiária.

Tabela 9 – Concentração de matéria orgânica em três profundidades do solo, em função do cultivo de braquiária ruziziensis durante a entressafra de soja e aplicação de fósforo (P), em 2014 e 2015.

Entressafra	Aplicação de P Sem	Aplicação de P Com	Média	Entressafra	Aplicação de P Sem	Aplicação de P Com	Média
	2014				2015		
---------- Matéria orgânica do solo (g dm^{-3}) ----------							
			0–5 cm				
Braquiária	21 Ab[a]	29 Aa	25	Braquiária	26 Ab	30 Aa	28
Pousio	21 Aa	22 Ba	21	Pousio	24 Aa	21 Ba	22
Média	21	25		Média	25	26	
			5–10 cm				
Braquiária	15 Ab	21 Aa	18	Braquiária	19	20	20 A
Pousio	16 Aa	16 Ba	16	Pousio	15	16	15 B
Média	16	18		Média	17 [ns]	18 [ns]	
			10–20 cm				
Braquiária	14 Ab	19 Aa	16	Braquiária	16	16	16 A
Pousio	14 Aa	14 Ba	14	Pousio	14	13	14 B
Média	14	17		Média	15 [ns]	15 [ns]	

[a] Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha e maiúsculas na coluna são significativamente diferentes de acordo com o teste t (p < 0.05). [ns] Não significativo.

A concentração de P_t extraída com NaOH-EDTA também não foi afetada pela rotação com braquiária (Tabela 10). O efeito da aplicação de P sobre o P_t e o P_o foi observado até 20 cm de profundidade do solo. Na camada de 20–40 cm do solo, não houve efeito de nenhum dos tratamentos, e o P_t e o P_o tiveram uma média de 57 e 23 mg Kg^{-1}, respectivamente, tanto em 2014 quanto em 2015.

O $P_{lábil\text{-}fitase}$ foi menor na camada mais superficial do solo com braquiária do que após o pousio em solo com aplicação de P em 2014 (Tabela 10). Em 2015, o $P_{lábil\text{-}fitase}$ foi menor após a braquiária do que após o pousio independentemente da aplicação de P, nas profundidades de 0–5 e 5–10 cm. A concentração de $P_{lábil\text{-}fitase}$ foi menor com a aplicação de P do que sem. Não houve efeito na camada de 20-40 cm de profundidade do solo, e a média de $P_{lábil\text{-}fitase}$ foi de 5 e 6 mg kg^{-1}, em 2014 e 2015, respectivamente.

Tabela 10 – Concentração de fósforo (P) total, orgânico e lábil por fitase extraídos com hidróxido de sódio e ácido etilenodiamino tetra-acético (NaOH-EDTA), em três profundidades do solo, em função do cultivo de braquiária ruziziensis durante a entressafra de soja e aplicação de P, em 2014 e 2015.

Entressafra	Aplicação de P Sem	Aplicação de P Com	Média	Entressafra	Aplicação de P Sem	Aplicação de P Com	Média
	2014				2015		
	---------- P Total (mg kg^{-1}) ----------						
			0–5 cm				
Braquiária	83	123	103 ^{ns}	Braquiária	94	133	114 ^{ns}
Pousio	96	118	107 ^{ns}	Pousio	103	122	113 ^{ns}
Média	89 b[a]	120 a		Média	99 b	127 a	
			5–10 cm				
Braquiária	75	105	90 ^{ns}	Braquiária	76	112	94 ^{ns}
Pousio	81	111	96 ^{ns}	Pousio	75	117	96 ^{ns}
Média	78 b	108 a		Média	76 b	115 a	
			10–20 cm				
Braquiária	76	87	82 ^{ns}	Braquiária	70	87	79 ^{ns}
Pousio	73	83	78 ^{ns}	Pousio	76	80	78 ^{ns}
Média	75 b	85 a		Média	73 b	84 a	
	---------- P orgânico (mg kg^{-1}) ----------						
			0–5 cm				
Braquiária	36	52	44 ^{ns}	Braquiária	40	59	50 ^{ns}
Pousio	37	48	43 ^{ns}	Pousio	44	52	48 ^{ns}
Média	37 b	50 a		Média	42 b	55 a	
			5–10 cm				
Braquiária	30	45	38 ^{ns}	Braquiária	33	46	39 ^{ns}
Pousio	36	46	41 ^{ns}	Pousio	31	38	35 ^{ns}
Média	33 b	46 a		Média	32 b	42 a	
			10–20 cm				
Braquiária	26	31	29 ^{ns}	Braquiária	29	32	31 ^{ns}
Pousio	29	28	29 ^{ns}	Pousio	30	27	28 ^{ns}
Média	28 ^{ns}	30 ^{ns}		Média	29 ^{ns}	30 ^{ns}	
	---------- P lábil por fitase (mg kg^{-1}) ----------						
			0–5 cm				
Braquiária	19 Aa	11 Bb	15	Braquiária	12	6	9 B
Pousio	18 Aa	15 Aa	17	Pousio	18	10	14 A
Média	19	13		Média	15 a	8 b	
			5–10 cm				
Braquiária	19	17	18 B	Braquiária	16	12	14 B
Pousio	21	21	21 A	Pousio	18	20	19 A
Média	20 ^{ns}	19 ^{ns}		Média	17 ^{ns}	16 ^{ns}	
			10–20 cm				
Braquiária	16	10	13 ^{ns}	Braquiária	18	10	14 ^{ns}
Pousio	13	10	12 ^{ns}	Pousio	12	16	14 ^{ns}
Média	15 a	10 b		Média	15 ^{ns}	13 ^{ns}	

[a] Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha e maiúsculas na coluna são significativamente diferentes de acordo com o teste t ($p < 0.05$).
^{ns} Não significativo.

A concentração de $P_{lábil\text{-}fitase}$ após a oxidação com hipobromito nos extratos com NaOH-EDTA foram claramente maiores do que antes da oxidação com hipobromito (Tabela 11). Porém, não houve efeito do cultivo da braquiária na concentração de $P_{lábil\text{-}fitase}$ após a oxidação com hipobromito.

Tabela 11 – Concentração de fósforo (P) lábil por fitase em solo extraído com hidróxido de sódio e ácido etilenodiamino tetra-acético (NaOH-EDTA) antes e após a oxidação com hipobromito, na profundidade de 0–10 cm do solo, em função do cultivo de braquiária ruziziensis durante a entressafra de soja e aplicação de P, em 2014 e 2015.

Entressafra	Aplicação de P Sem	Aplicação de P Com	Média	Entressafra	Aplicação de P Sem	Aplicação de P Com	Média
	2014				2015		
---------- P lábil por fitase antes da oxidação com hipobromito (mg kg^{-1}) ----------							
Braquiária	19	14	16 B	Braquiária	14	9	11 B
Pousio	20	18	19 A	Pousio	18	15	17 A
Média	19 a[a]	16 b		Média	16 a	12 b	
---------- P lábil por fitase após a oxidação com hipobromito (mg kg^{-1}) ----------							
Braquiária	20	30	25 [ns]	Braquiária	24	32	28 [ns]
Pousio	21	29	25 [ns]	Pousio	23	29	26 [ns]
Média	21 b	30 a		Média	24 b	31 a	

[a] Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha e maiúsculas na coluna são significativamente diferentes de acordo com o teste t ($p < 0.05$).
[ns] Não significativo.

O tempo de retenção do P_i e do *mio*-inositol hexafosfato no HPLC foi de aproximadamente 30 min entre si, e o *mio*-inositol hexafosfato foi o último composto retido na coluna do HPLC. A confirmação do pico do *mio*-inositol hexafosfato foi obtida tanto por co-eluição com padrão quanto com a incubação das amostras coletadas no HPLC com fitase. Uma clara resolução dos extratos de solo oxidados com hipobromito foi obtida usando o método do HPLC, como exemplificado na Figura 14. Apesar disso, os picos foram largos, e a resolução pode ser melhorada em novos estudos com a combinação do HPLC com espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma indutivamente acoplado (inductively coupled plasma - atomic emission spectrometry - ICP-AES) para a detecção direta das formas de P eluídas. Outros picos menores foram observados, e foram denominados como inositóis fosfatos não identificados.

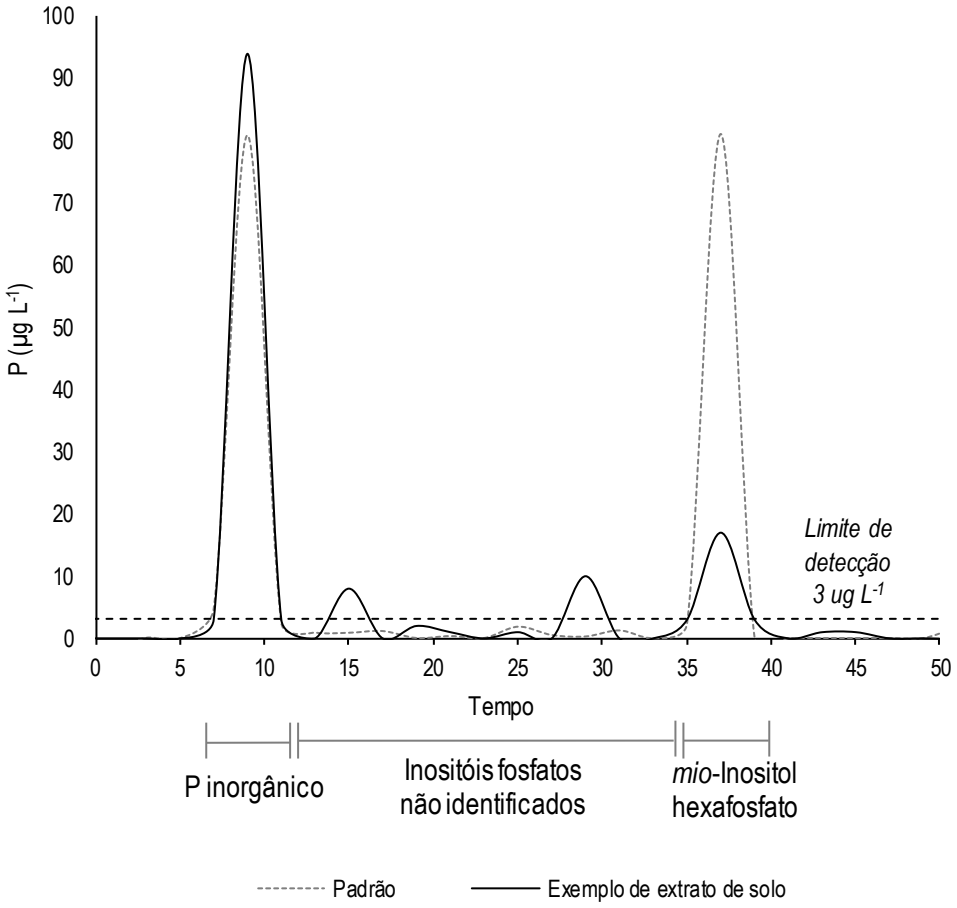

Figura 14 – Análise de especiação do fósforo (P) do solo por meio de HPLC após a extração com hidróxido de sódio e ácido etilenodiamino tetra-acético (NaOH-EDTA) e oxidação com hipobromito, e uma amostra de padrão formulado com ortofosfato e *mio*-inositol hexafosfato. Com detalhe para a presença de P inorgânico, P orgânico de inositóis fosfatos não identificados e *mio*-inositol hexafosfato no solo.

A concentração de P_i nos extratos com NaOH-EDTA brominados não foi afetada pela braquiária (Tabela 12). A concentração dos inositóis fosfatos não identificados foi maior com a braquiária do que com pousio quando o P foi aplicado enquanto que o *mio*-inositol hexafosfato foi menor.

A concentração de inositóis fosfatos não identificados aumentou após o cultivo de braquiária em solo com aplicação de P, em ambos os anos. O cultivo de braquiária resultou em menor concentração de *mio*-inositol hexafosfato em solo com aplicação de P do que em solo sem aplicação de P (Tabela 12). Em contraste, no solo em pousio com aplicação de P foi observado uma maior concentração de *mio*-inositol hexafosfato do que no solo sem aplicação de P.

Tabela 12 – Concentração de fósforo (P) inorgânico, inositóis fosfatos não identificados, *mio*-inositol hexafosfato e porcentagem de *mio*-inositol hexafosfato com relação ao P total (P_t) na profundidade de 0–10 cm do solo, em função do cultivo de braquiária ruziziensis durante a entressafra de soja e aplicação de P, em 2014 e 2015. Dados obtidos com cromatografia líquida de alta performance (HPLC) usando extratos de solo oxidados com hipobromito.

Entressafra	Aplicação de P Sem	Aplicação de P Com	Média	Entressafra	Aplicação de P Sem	Aplicação de P Com	Média
	2014				2015		
	---------- P inorgânico (mg kg^{-1}) ----------						
Braquiária	59	75	67 ^{ns}	Braquiária	64	90	77 ^{ns}
Pousio	69	91	80 ^{ns}	Pousio	64	91	78 ^{ns}
Média	64 b[a]	83 a		Média	64 b	91 a	
	---------- Inositóis fosfatos não identificados (mg kg^{-1}) ----------						
Braquiária	5 Bb	23 Aa	14	Braquiária	13 Ab	24 Aa	19
Pousio	11 Aa	15 Ba	13	Pousio	12 Aa	13 Ba	12
Média	8	19		Média	13	19	
	---------- *mio*-Inositol hexafosfato (mg kg^{-1}) ----------						
Braquiária	15 Aa	8 Bb	12	Braquiária	11 Aa	7 Bb	9
Pousio	11 Bb	14 Aa	12	Pousio	11 Ab	16 Aa	14
Média	13	11		Média	11	12	
	---------- *mio*-Inositol hexafosfato (% do P_t) ----------						
Braquiária	19 Aa	8 Bb	13	Braquiária	12 Aa	5 Bb	9
Pousio	12 Ba	12 Aa	12	Pousio	13 Aa	14 Aa	13
Média	16	10		Média	12	10	

[a] Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha e maiúsculas na coluna são significativamente diferentes de acordo com o teste t ($p < 0.05$).
^{ns} Não significativo.

3.4 Discussão

Em estudos anteriores, foi reportado que o cultivo de braquiária como cultura de cobertura durante a entressafra de soja resulta em acúmulo de P_o nas camadas mais superficiais do solo após longo prazo (Merlin et al., 2014; Almeida e Rosolem, 2016). No presente estudo, espera-se obter um melhor entendimento da dinâmica das espécies de P_o no solo cultivado com braquiária ruziziensis e especificamente explorar as seguintes questões: como a concentração de *mio*-inositol hexafosfato e $P_{lábil\text{-}fitase}$ é afetada pela rotação com braquiária e se isso pode gerar novas informações sobre o ciclo dos inositóis fosfatos em campo. Quão forte é o efeito da aplicação de fertilizantes fosfatados nesta dinâmica? Existem possíveis perspectivas de manejo a partir destes resultados?

O P_o do solo foi equivalente à 40% do P total, o que está de acordo com o observado por Chapuis-Lardy et al. (2001) em solos intemperizados no Brasil. Porém, não houve efeito do cultivo de braquiária no P_o em comparação com o solo mantido em pousio durante a entressafra, apesar da maior concentração de MOS após a braquiária. A concentração de P_o não é necessariamente correlacionada com a MOS;

no entanto, há sempre uma boa correlação do P_o com o P total (Appelhans et al., 2016), como o observado no presente experimento, em que a concentração de P_o foi maior quando houve aplicação de P. De acordo com George et al. (2007), a contínua aplicação de fertilizantes fosfatados inorgânicos aumenta tanto a concentração de P_i quanto de P_o. A concentração de P_o aumenta devido ao maior acúmulo de P nas plantas e consequente maior deposição de resíduos ricos em P assim como por uma maior síntese de P_o pelos microorganismos do solo.

A concentração de $P_{lábil\text{-}fitase}$ e o *mio*-inositol hexafosfato quantificado com HPLC foi menor com a braquiária em solo com aplicação de P em comparação com o solo sem aplicação de P, e também menor do que no solo com pousio, indicando um efeito sinérgico da aplicação de P e cultivo de braquiária no aumento da ciclagem e biodisponibilidade de inositol fosfatos no solo. O $P_{lábil\text{-}fitase}$ não é necessariamente o *mio*-inositol hexafosfato, desde que o método de determinação do $P_{lábil\text{-}fitase}$ consiste no uso de fitase com amplo espectro de especificidade por substratos, e pode resultar na quantificação da hidrólise de monoésteres de ortofosfato que não são o *mio*-inositol hexafosfato (Menezes-Blackburn et al., 2013). O método de determinação do $P_{lábil\text{-}fitase}$ trata da labilidade do P_o enquanto que o *mio*-inositol hexafosfato quantificado com HPLC é um indicativo da concentração desta espécie recalcitrante de P em particular, dessa forma é conveniente o uso desses métodos em conjunto e assim, a informação gerada com cada um desses métodos deve ser usada de forma complementar.

A oxidação com hipobromito do solo extraído com NaOH-EDTA resultou em maior concentração de $P_{lábil\text{-}fitase}$ principalmente no tratamento com aplicação de P, invertendo o quadro analisado antes da oxidação com hipobromito. Isto indica que uma parte significativa do $P_{lábil\text{-}fitase}$ no extrato com NaOH-EDTA não estava disponível para a fitase. De acordo com Hayes et al. (2000), ambos os fatores, disponibilidade de substrato e presença/atividade enzimática, são determinantes na hidrólise dos inositóis fosfatos no solo. A forte adsorção dos inositóis fosfatos tem sido demonstrada em diversos compostos do solo, como a caulinita, ilita, montmorilonita, goetita e óxidos de Al, o que limita a ação enzimática (Menezes-Blackburn et al., 2013). De acordo com Bowman e Moir (1993), o NaOH promove a solubilização do P_o, enquanto que o EDTA é capaz de complexar cátions que ligam o P_o nos componentes do solo, superando uma possível resistência à extração do P_o pelo NaOH. Porém, a porcentagem de P recuperado pela extração com NaOH varia bastante, sendo menor em solos pobres em P que não recebem a aplicação de fertilizantes orgânicos

(Mcdowell et al., 2007). Possivelmente, parte dos inositóis fosfatos precipitados ou adsorvidos aos componentes do solo não foram solubilizados com a extração por NaOH-EDTA, e foram apenas acessados pela enzima após a oxidação com hipobromito. Não obstante, a explicação mais plausível para esta diferença é que parte dos inositóis fosfatos no extrato com NaOH-EDTA são covalentemente ligados à MOS ou outros compostos orgânicos (oxidáveis com hipobromito), sendo inacessível à fitase durante a incubação.

A concentração do P_i quantificada após a oxidação com hipobromito foi cerca de 16 mg kg^{-1} maior do que antes da oxidação com hipobromito. Este aumento no P_i se deve à hidrólise das formas de P_o que não são resistentes à oxidação com hipobromito (Irving e Cosgrove, 1981). A degradação dos compostos orgânicos pela oxidação com hipobromito foi crucial para garantir um extrato puro, livre de interferentes, e assim permitindo o uso de HPLC para determinação de inositóis fosfatos nos extratos de solo com NaOH-EDTA. A oxidação com hipobromito tem sido usada com sucesso para eliminar materiais orgânicos que não são inositóis fosfatos em extratos de solo para análise de RMN ^{31}P (Turner e Richardson, 2004; Turner et al., 2012).

Claramente, a análise com HPLC dos extratos com NaOH-EDTA após a oxidação com hipobromito permitiu a obtenção de maiores esclarecimentos da dinâmica de formas recalcitrantes de P_o no solo. A maior concentração de $P_{lábil\text{-}fitase}$ observada após a oxidação com hipobromito não foi exclusivamente devido ao *mio*-inositol hexafosfato, desde que foi observado a presença de outras formas de P com tempo de retenção maior que o ortofosfato e menores que o *mio*-inositol hexafosfato. Estas formas de P foram denominadas de inositóis fosfatos não identificados, e são possivelmente produtos da degradação do *mio*-inositol hexafosfato (e.g. *mio*-inositol 1,2,3,4,5-pentafosfato). Os inositóis fosfatos (*mio*-inositol fosfatos + inositóis fosfatos não identificados) corresponderam por aproximadamente 30% do P total extraído com NaOH-EDTA, o que é semelhante ao observado em solos da região Cerrado (22-39%) (Chapuis-Lardy et al., 2001).

O uso de braquiária como cultura de cobertura combinado com a aplicação de fertilizantes fosfatados resulta em menores concentrações de *mio*-inositol hexafosfato e maiores concentrações de outras formas de inositóis fosfatos, quando comparado com o solo sem aplicação de P. Tem sido observado em vários estudos que a aplicação de fertilizantes fosfatados solúveis resulta na supressão da atividade das

fosfatases, com consequente acúmulo de $P_{lábil\text{-}fitase}$ no solo (Olander e Vitousek, 2000; George et al., 2007), uma vez que a maior disponibilidade de P reduz a demanda de P_o via mineralização (Turner et al., 2002). Contudo, no presente estudo, o P é aplicado na semeadura da soja, cerca de 1 ano antes da amostragem de solo, desta forma, avalia-se o efeito residual da aplicação de P. Além disso, a concentração de P no solo com aplicação de P ainda é considerada baixa. A baixa concentração de P_{resina} está associada com a baixa concentração total de P no solo, cerca de 400 mg kg^{-1} (Almeida e Rosolem, 2016), o qual é muito menor do que observado em solo que receberam grande quantidade de P após um longo período (acima de 1000 mg kg^{-1}) (Menezes-Blackburn et al., 2017).

O cultivo de braquiária pode ter favorecido a comunidade microbiana capaz de degradar inositóis fosfatos, uma vez que vários compostos orgânicos exsudados pelas raízes de braquiária, como os AO (Wenzl et al., 2001), são uma fonte de energia para os microorganismos do solo (Hinsinger, 2001; Menezes-Blackburn et al., 2016a). Além disso, a exsudação de AO, como o citrato, pelas raízes pode complexar cátions e prevenir a adsorção das enzimas nas partículas do solo (Hayes et al., 2000). Uma alta atividade de fosfatase, incluindo fitases, tem sido observada com a presença de microorganismos na rizosfera de braquiária ruziziensis (Nahas, 2002; Rosolem et al., 2014). A baixa concentração de $P_{lábil\text{-}fitase}$ após a braquiária do que o pousio, pode também ser um resultado da liberação de fitases pelas raízes da braquiária. De acordo com Louw-Gaume et al. (2010), as raízes da braquiária ruziziensis apresentam certa atividade de fitase, e que não é afetada pela aplicação de P. A braquiária ruziziensis é uma espécie altamente adaptada aos solos tropicais pobres em P (Begum et al., 2006), com raízes capazes de aumentar a absorção de P por meio de ajustes fisiológicos (Merlin et al., 2015) e morfológicos (Louw-Gaume et al., 2010). Ainda, a contínua adição de grandes quantidades de resíduos de braquiária, assim como a maior concentração de MOS no solo com braquiária do que no pousio, podem resultar em uma maior manutenção da umidade do solo e menores oscilações na temperatura do solo (Awan, 1964), favorecendo assim os microorganismos do solo. Porém, a menor concentração de $P_{lábil\text{-}fitase}$ após o cultivo de braquiária foi observado apenas no solo com aplicação de P, o que pode significar que a aplicação de P é capaz de resultar em um maior efeito do cultivo de braquiária. Desde que a produtividade de braquiária foi quase duas vezes maior em solo com aplicação de P do que no solo sem aplicação de P, uma maior quantidade de ácidos orgânicos exsudados pelas

raízes deve ser esperado, favorecendo a proliferação da comunidade microbiana, complexando cátions (Lienhard et al., 2012) e solubilizando inositóis fosfatos (Martin et al., 2004; Gerke, 2015). De acordo com Gerke (2015), pesquisas futuras considerando a aquisição de P de *mio*-inositol hexafosfatos devem ser enfatizadas na mobilização do *mio*-inositol hexafosfato da fase sólida do solo pela ação dos exsudados radiculares, principalmente os AO di e tricarboxílicos, os quais podem aumentar a solubilidade do *mio*-inositol hexafosfato no solo.

Apesar de que o *mio*-inositol hexafosfato representou em média apenas 12% do P total extraído com NaOH-EDTA, sua concentração foi reduzida em 50% com o cultivo de braquiária quando comparado com o pousio na presença de aplicação de fertilizantes fosfatados. Portanto, a aplicação de P no sistema de rotação soja-braquiária, como o recomendado para o cultivo de soja, pode ser uma importante prática de manejo para estimular a ciclagem de *mio*-inositol hexafosfato, considerado a forma mais recalcitrante de P_o no solo. Novos estudos são necessários para avaliar a comunidade microbiana e a atividade de fitases na rizosfera de braquiária ruziziensis, assim como os fatores que favorecem a solubilização de *mio*-inositol hexafosfatos e o desenvolvimento de micoorganismos produtores de fitases, como a exsudação de AO pelas raízes de braquiária.

3.5 Conclusão

A rotação soja-braquiária no longo prazo aumenta a concentração de MOS. Porém, o aumento na MOS não tem correlação com o P_o e o $P_{lábil\text{-}fitase}$, incluindo o acúmulo de *mio*-inositol hexafosfato no solo. Ao contrário do que é geralmente observado, na presença de aplicação de fertilizantes fosfatados, a concentração de *mio*-inositol hexafosfato é reduzida, com o cultivo de braquiária como cultura de cobertura na entressafra de soja em comparação com o pousio. A aplicação de P resulta em um grande aumento da produtividade de braquiária, o que por sua vez resulta em uma provável maior exsudação de AO e uma consequente mobilização de formas recalcitrantes de P. Apesar disso, a concentração de formas de inositóis fosfatos não identificadas é maior após a braquiária do que o pousio. Estas formas não identificadas de inositóis fosfatos podem ser o produto da degradação de *mio*-inositol hexafosfato, o que também é uma evidência do mecanismo de degradação do *mio*-inositol hexafosfato no solo quando a produtividade de braquiária ruziziensis é alta.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D. S.; ROSOLEM, C. A. Ruzigrass grown in rotation with soybean increases soil labile phosphorus. **Agronomy Journal**, v. 108, n. 6, p. 1-9, 2016.

APPELHANS, S. C. et al. Assessing organic phosphorus contributions for predicting soybean response to fertilization. **Soil Science Society of America Journal**, v. 80, n. 6, p. 1688-1697, 2016.

AWAN, A. B. Influence of mulch on soil moisture, soil temperature and yield of potatoes. **American Potato Journal**, v. 41, n. 10, p. 337-339, 1964.

BEGUM, H. H. et al. Role of phosphoenolpyruvate carboxylase in the adaptation of a tropical forage grass to low-phosphorus acid soils. **Journal of Plant Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 35-57, 2006.

BOWMAN, R. A.; MOIR, J. O. Basic EDTA as an extractant for soil organic phosphorus. **Soil Science Society of America Journal**, v. 57, p. 1516-1518, 1993.

CADE-MENUN, B.; LIU, C. W. Solution phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy of soils from 2005 to 2013: A review of sample preparation and experimental parameters. **Soil Science Society of America Journal**, v. 78, n. 1, p. 19-37, 2014.

CADE-MENUN, B. J. Characterizing phosphorus forms in cropland soils with solution 31P-NMR: Past studies and future research needs. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 4, n. 1, p. 4-19, 2017.

CELI, L.; BARBERIS, E. Abiotic reactions of inositol phosphates in soil. In: TURNER, B. L., et al (Ed.). **Inositol phosphates: Linking agriculture and the environment**. Wallingford, UK: CAB International, 2007. p.207-220.

CELI, L. et al. Interaction of inositol hexaphosphate on clays: Adsorption and charging phenomena. **Soil Science**, v. 164, n. 8, p. 574-585, 1999.

CHAPUIS-LARDY, L.; BROSSARD, M.; QUIQUAMPOIX, H. Assessing organic phosphorus status of Cerrado Oxisols (Brazil) using 31P-NMR spectroscopy and phosphomonoesterase activity measurement. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 81, n. 5, p. 591-601, 2001.

CONDRON, L. M.; TURNER, B. L.; CADE-MENUN, B. J. Chemistry and dynamics of soil organic phosphorus. In: SIMS, J. T.; SHARPLEY, A. N. (Ed.). **Phosphorus: Agriculture and the environment**. Madison: ASA-CSSA-SSSA, 2005. p.87-121.

ESPINOSA, M.; TURNER, B. L.; HAYGARTH, P. M. Preconcentration and separation of trace phosphorus compounds in soil leachate. **Journal of Environmental Quality**, v. 28, n. 5, p. 1497-1504, 1999.

FRANZLUEBBERS, A. J.; SAWCHIK, J.; TABOADA, M. A. Agronomic and environmental impacts of pasture–crop rotations in temperate North and South America. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 190, p. 18-26, 2014.

GEORGE, T. S. et al. Organic phosphorus in the terrestrial environment: A perspective on the state of the art and future priorities. **Plant and Soil**, p. 1-18, 2017.

GEORGE, T. S. et al. Accumulation and phosphatase-lability of organic phosphorus in fertilised pasture soils. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 58, n. 1, p. 47-55, 2007.

GERKE, J. Phytate (inositol hexakisphosphate) in soil and phosphate acquisition from inositol phosphates by higher plants: A review. **Plants**, v. 4, n. 2, p. 253-266, 2015.

GIAVENO, C. et al. Interaction of phytases with minerals and availability of substrate affect the hydrolysis of inositol phosphates. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 3, p. 491-498, 2010.

HARRISON, A. F. **Soil organic phosphorus: a review of world literature**. Wallingford: CAB International, 1987. 257 p.

HAYES, J. E.; RICHARDSON, A. E.; SIMPSON, R. J. Components of organic phosphorus in soil extracts that are hydrolysed by phytase and acid phosphatase. **Biology and Fertility of Soils**, v. 32, n. 4, p. 279-286, 2000.

HINSINGER, P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: A review. **Plant and soil**, v. 237, n. 2, p. 173-195, 2001.

IRVING, G. C. J.; COSGROVE, D. J. The use of hypobromite oxidation to evaluate two current methods for the estimation of inositol polyphosphates in alkaline extracts of soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 12, n. 5, p. 495-509, 1981.

KARATHANASIS, A. D.; SHUMAKER, P. D. Organic and inorganic phosphate interactions with soil hydroxy-interlayered minerals. **Journal of Soils and Sediments**, v. 9, n. 5, p. 501-510, 2009.

LIENHARD, P. et al. No-till and cover crops shift soil microbial abundance and diversity in Laos tropical grasslands. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 33, n. 2, p. 375-384, 2012.

LOUW-GAUME, A. E. et al. A comparative study on plant growth and root plasticity responses of two *Brachiaria* forage grasses grown in nutrient solution at low and high phosphorus supply. **Plant and Soil**, v. 328, n. 1, p. 155-164, 2010.

LOUW-GAUME, A. E. et al. Temporal differences in plant growth and root exudation of two *Brachiaria* grasses in response to low phosphorus supply. **Tropical Grasslands**, v. 5, p. 103-116, 2017.

MARTIN, M.; CELI, L.; BARBERIS, E. Desorption and plant availability of *myo*-inositol hexaphosphate adsorbed on goethite. **Soil Science**, v. 169, n. 2, p. 115-124, 2004.

MCDOWELL, R. W.; CADE-MENUN, B.; STEWART, I. Organic phosphorus speciation and pedogenesis: Analysis by solution 31P nuclear magnetic resonance spectroscopy. **European Journal of Soil Science**, v. 58, n. 6, p. 1348-1357, 2007.

MENEZES-BLACKBURN, D. et al. Opportunities for mobilizing recalcitrant phosphorus from agricultural soils: A review. **Plant and Soil**, p. 1-18, 2017.

MENEZES-BLACKBURN, D. et al. Phytases and phytase–labile organic phosphorus in manures and soils. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 43, n. 9, p. 916-954, 2013.

MENEZES-BLACKBURN, D. et al. Organic acids regulation of chemical–microbial phosphorus transformations in soils. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 21, p. 11521-11531, 2016.

MERLIN, A.; HE, Z. L.; ROSOLEM, C. A. Congo grass grown in rotation with soybean affects phosphorus bound to soil carbon. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 888-895, 2014.

MERLIN, A.; ROSOLEM, C. A.; HE, Z. L. Non-labile phosphorus acquisition by *Brachiaria*. **Journal of Plant Nutrition**, v. 39, n. 9, p. 1319-1327, 2015.

NAHAS, E. Microrganismos do solo produtores de fosfatases em diferentes sistemas agrícolas. **Bragantia**, v. 61, p. 267-275, 2002.

OLANDER, L. P.; VITOUSEK, P. M. Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. **Biogeochemistry**, v. 49, n. 2, p. 175-191, 2000.

RAIJ, B. et al. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. 285 p.

RAIJ, B.; QUAGGIO, J. A.; DA SILVA, N. M. Extraction of phosphorus, potassium, calcium, and magnesium from soils by an ion-exchange resin procedure. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 17, n. 5, p. 547-566, 1986.

RAO, I. M.; KERRIDGE, P. C.; MACEDO, M. C. M. Nutritional requirements of *Brachiaria* and adaptation to acid soils. In: MILES, J. W., et al (Ed.). ***Brachiaria*: Biology, agronomy and improvement**. Cali/Brasília: CIAT/EMBRAPA, 1996. cap. 4, p.53-71.

RICHARDSON, A. E. et al. Utilization of phosphorus by pasture plants supplied with myo-inositol hexaphosphate is enhanced by the presence of soil micro-organisms. **Plant and Soil**, v. 229, n. 1, p. 47-56, 2001.

ROSOLEM, C. A.; MERLIN, A.; BULL, J. C. L. Soil phosphorus dynamics as affected by congo grass and P fertilizer. **Scientia Agricola**, v. 71, p. 309-315, 2014.

SANTOS, H. G. et al. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 376 p.

SHANG, C. et al. Bioavailability of organic and inorganic phosphates adsorbed on short-range ordered aluminum precipitate. **Microbial Ecology**, v. 31, n. 1, p. 29-39, 1996.

SHEARS, S. B.; TURNER, B. L. Nomenclature and terminology of inositol phosphates: clarification and a glossary of terms. In: TURNER, B. L., et al (Ed.). **Inositol phosphates: Linking agriculture and the environment**. Wallingford, UK: CAB International, 2007. p.1-6.

STEVENSON, F. J.; COLE, M. A. **Cycles of soils: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients**. 2. New York: John Wiley & Sons, 1999. 448 p.

TURNER, B. L. et al. Determination of *neo*- and D-*chiro*-inositol hexakisphosphate in soils by solution (31)P NMR spectroscopy. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 9, p. 4994-5002, 2012.

TURNER, B. L. et al. Inositol phosphates in the environment. **Philosophical Transactions of the Royal Society, B: Biological Sciences**, v. 357, n. 1420, p. 449-469, 2002.

TURNER, B. L.; RICHARDSON, A. E. Identification of *scyllo*-inositol phosphates in soil by solution phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Soil Science Society of America Journal**, v. 68, n. 3, p. 802-808, 2004.

VAN VELDHOVEN, P. P.; MANNAERTS, G. P. Inorganic and organic phosphate measurements in the nanomolar range. **Analytical Biochemistry**, v. 161, n. 1, p. 45-48, 1987.

WENZL, P. et al. The high level of aluminum resistance in signalgrass is not associated with known mechanisms of external aluminum detoxification in root apices. **Plant Physiology**, v. 125, n. 3, p. 1473-1484, 2001.

YADAV, B. K.; TARAFDAR, J. C. Phytase activity in the rhizosphere of crops, trees and grasses under arid environment. **Journal of Arid Environments**, v. 58, n. 3, p. 285-293, 2004.

CAPÍTULO 4 – CINÉTICA DO FÓSFORO NO SOLO APÓS O CULTIVO DE BRAQUIÁRIA RUZIZIENSIS

Resumo

O uso de gramíneas como cultura de cobertura na entressafra de culturas de grãos em sistema semeadura direta tem sido amplamente adotado. Contudo, o cultivo de braquiária ruziziensis (*Urochloa ruziziensis*) tem resultado em menor disponibilidade de fósforo, afetando a viabilidade e sustentabilidade do sistema de rotação com essa gramínea. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da braquiária ruziziensis na disponibilidade e cinética de dessorção de fósforo em solo com aplicação de doses de fertilizante fosfatado. Avaliou-se por dois anos um experimento de longa duração com o cultivo de soja (*Glycine max*) em rotação com braquiária ruziziensis ou pousio, com a aplicação de 0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5. A cinética de dessorção do fósforo foi avaliada por meio do gradiente de equilíbrio e difusão em finas membranas e por meio do modelo matemático de fluxo induzido no solo. O fósforo na biomassa microbiana foi quantificado para verificar se a concentração de fósforo na solução do solo foi reduzida pela imobilização por microorganismos. O cultivo de braquiária reduziu a concentração de fósforo na biomassa microbiana e na solução do solo especialmente quando houve aplicação de fósforo no solo. A concentração do fósforo lábil também foi menor após a braquiária do que após o pousio. A capacidade do solo em reabastecer fósforo para a solução do solo foi menor após a braquiária independentemente da aplicação de fósforo, devido à menor dessorção em resposta à perturbação imposta pelo gradiente de difusão com finas membranas. O cultivo de braquiária ruziziensis como cultura de cobertura na entressafra de soja resulta em menor disponibilidade de fósforo independentemente das doses de fósforo por meio da redução da mobilidade e ressuprimento do fósforo da fase sólida para a solução do solo.

Este terceiro capítulo está publicado na Geoderma (ISSN: 0016-7061), disponível em: https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.09.056.

4.1 Introdução

O cultivo de braquiária ruziziensis [*Urochloa ruziziensis* (R. Germ. e C.M. Evrard) Morrone e Zuloaga] tem sido preferencialmente adotado como cultura de cobertura durante o período de entressafra e como forrageira em sistemas de integração lavoura-pecuária em comparação com outras gramíneas do gênero Urochloa (syn. Brachiaria), devido à facilidade de dessecação, alta produtividade, palatabilidade e alta adaptabilidade ao solos pobres em fósforo (P) (Boddey et al., 1996; Nascente et al., 2013). A alta capacidade de absorção de P pela braquiária ruziziensis é uma característica importante para promover a ciclagem de P e aumentar a eficiência do uso deste nutriente (Merlin et al., 2015; Almeida e Rosolem, 2016). Porém, baixas produtividades das culturas em sucessão à braquiária ruziziensis tem sido observado em comparação com o solo mantido em pousio durante a entressafra (Almeida et al., 2018b). Almeida et al. (2018b) observaram uma menor produtividade de grãos e teor de P em folhas de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] cultivada em rotação com a braquiária do que após o pousio, por quatro anos consecutivos. Também tem sido observado um menor acúmulo de P em plantas de milho (*Zea mays* L.) cultivadas após a braquiária do que em solo sob pousio durante o período de entressafra (Almeida et al., 2018a).

A menor biodisponibilidade de P no solo após a braquiária tem sido atribuída à uma possível menor dessorção e maior adsorção do P no solo devido a interações dos óxidos de Fe e Al com a matéria orgânica do solo (MOS) (Almeida et al., 2018a). A baixa biodisponibilidade de P no solo cultivado com braquiária também tem sido relacionada com uma menor absorção de P, uma vez que foi observado um menor esgotamento do P na rizosfera de plantas de milho em solo previamente cultivado com braquiária (Almeida et al., 2018a). Almeida et al. (2018b) não encontraram correlação da biodisponibilidade de P no solo com a disponibilidade estimada pelo método da resina. Além disso, por meio da extração sequencial de P do solo, Almeida e Rosolem (2016) observaram uma maior concentração de P extraído por resina, $NaHCO_3$ e NaOH, consideradas frações de P lábil e moderadamente lábil, após o cultivo de braquiária do que após pousio. A falta de correlação entre os testes convencionais e absorção de P pelas plantas cultivadas após a braquiária é um indicativo de que o efeito da braquiária não é adequadamente considerado por estes métodos de extração, e outros métodos mais realísticos são necessários para refletir a resposta

das plantas à disponibilidade de P e para elucidar o efeito da braquiária na mobilidade e dessorção do P no solo.

A absorção de P pelas plantas resulta em depleção do P na rizosfera, induzindo a difusão do P em direção as raízes e liberação do P da fase sólida do solo (Barber et al., 1963). O método de gradiente de difusão em finas membranas (diffusive gradiente in thin films – DGT) imita ação das plantas, criando um fluxo difusivo devido ao esgotamento do P, e induzindo o ressuprimento de P pela fase sólida do solo devido ao desequilíbrio entre a concentração do P adsorvido e do P na solução do solo (Lehto, 2016). O método DGT tem sido usado com sucesso em uma ampla variedade de solos para estimar a disponibilidade de P para diversas culturas como o milho (Six et al., 2013; Heidari et al., 2017), cevada (*Hordeum vulgare* L.) (Tandy et al., 2011) e trigo (*Triticum Aestivum* L.) (Mason et al., 2010). De acordo com Six et al. (2012), a maior acurácia na estimativa da disponibilidade de P pelo método DGT do que os métodos convencionais de extração de P se deve ao processo de difusão que é levado em consideração com o método DGT, a menor interferência por outros ânions com o DGT, a extração de formas de P não lábeis pela agitação e baixa relação solo:solução nos métodos de extração convencionais e por causa da baixa confiabilidade na determinação de P quando as concentrações de P estão próximas do limite de detecção. O uso de uma análise de solo adequada para estimar a disponibilidade de P não só resulta em uma determinação mais precisa do P biodisponível, mas também em uma melhor diagnose da viabilidade dos sistemas agrícolas, contribuindo na busca de sistemas de produção de alimentos mais sustentáveis.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de longo prazo da rotação soja-braquiária na disponibilidade de P do solo e na cinética de dessorção do P, em função da aplicação de doses de P. Especificamente para testar a hipótese de que o cultivo de braquiária resulta em menor dessorção de P no solo como discutido em estudos prévios (Almeida et al., 2018a), afetando dessa forma os parâmetros relacionados com a disponibilidade de P estimados pelo método DGT.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Caracterização da área experimental e tratamentos

Um experimento de campo de longa duração localizado em Botucatu, São Paulo, Brasil (22°50′00″ S; 48°25′31″ O; 806 m de altitude) foi avaliado por dois anos (2014 e 2015). O solo da área experimental é um Latossolo Vermelho distroférrico (Santos et al., 2006), de textura média, com 670 g kg^{-1} de areia e 210 g kg^{-1} de argila. A área selecionada para o experimento tem sido cultivada sob sistema semeadura direta (SSD) desde 1998. De 1998 a 2005, foi cultivado soja [*Glycine max* (L.) Merrill] no verão em rotação com aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.) e triticale (*Avena strigosa* Schreb.) no outono/inverno, e milheto [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] na primavera. A partir de 2006, quando o presente experimento foi iniciado, a soja foi cultivada em rotação com braquiária ruziziensis [*Urochloa ruziziensis* (R. Germ. e C.M. Evrard) Morrone e Zuloaga] ou pousio, com a aplicação anual de 0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 na forma de superfosfato triplo (SFT) no sulco de semeadura da soja. O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados no esquema fatorial 2 × 3, com quatro repetições. As parcelas tiveram 8 m de comprimento × 5 m de largura. No tratamento com pousio, houve o crescimento de plantas daninhas de forma aleatória e esparsa, com produção de matéria seca em quantidade insignificante no final do período de entressafra.

Amostras de solo foram coletadas nas profundidades de 0–5, 5–10, 10–20 e 20–40 cm, no mês de novembro. Para isto, seis sub-amostras de solo foram aleatoriamente coletadas por parcela para compor uma amostra por profundidade por parcela, usando uma sonda de 50 mm de diâmetro. As amostras foram secas ao ar e peneiradas em peneira de malha de 2 mm para posterior análise química,

4.2.2 Caracterização química do solo

Foram determinados o pH do solo em cloreto de cálcio 0,01 mol L^{-1} (1:2,5, solo/solução) acidez potencial (H+Al) no pH 7 e capacidade de troca de cátions (CTC) de acordo com Raij et al. (2001). O P do solo foi extraído usando o método da resina (P_{resina}), de acordo com Raij et al. (1986). A caracterização química do solo está apresentada na Tabela 13.

Tabela 13 – Características químicas do solo, em quatro profundidades, para cada tratamento, com braquiária ruziziensis ou pousio, e com 0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5, em 2014 e 2015.

Profundidade	pH[a]	P_{resina}[b]	H+Al[c]	CTC[d]	Profundidade	pH	P_{resina}	H+Al	CTC
cm		mg dm^{-3}	mmol$_c$ dm^{-3}		cm		mg dm^{-3}	mmol$_c$ dm^{-3}	
	Braquiária					Pousio			
				2014					
				0 kg ha^{-1} de P_2O_5					
0–5	6,3	13	13	56	0–5	6,2	15	13	56
5–10	5,1	5	19	41	5–10	5,7	5	17	43
10–20	4,8	6	27	36	10–20	4,8	5	28	39
20–40	4,4	3	35	42	20–40	4,2	3	44	50
				30 kg ha^{-1} de P_2O_5					
0–5	6,4	19	12	61	0–5	6,3	18	13	53
5–10	5,7	7	18	45	5–10	5,6	9	18	43
10–20	4,6	5	30	41	10–20	4,7	6	27	39
20–40	4,2	3	39	44	20–40	4,2	3	39	45
				60 kg ha^{-1} de P_2O_5					
0–5	6,3	26	13	52	0–5	6,4	26	12	60
5–10	5,5	18	22	47	5–10	5,9	13	16	44
10–20	4,5	7	34	45	10–20	4,8	7	27	39
20–40	4,2	4	39	44	20–40	4,3	3	39	44
				2015					
				0 kg ha^{-1} de P_2O_5					
0–5	6,5	13	13	60	0–5	6,7	15	13	57
5–10	6,0	8	18	48	5–10	7,5	7	15	44
10–20	5,4	7	24	39	10–20	5,8	8	25	40
20–40	5,0	3	34	44	20–40	5,2	3	40	49
				30 kg ha^{-1} de P_2O_5					
0–5	7,1	22	12	64	0–5	6,7	20	13	61
5–10	6,6	8	18	49	5–10	6,2	10	19	47
10–20	6,1	6	28	43	10–20	5,2	4	28	42
20–40	5,6	3	41	48	20–40	4,9	3	35	44
				60 kg ha^{-1} de P_2O_5					
0–5	6,6	32	14	68	0–5	6,7	24	14	57
5–10	6,1	27	22	51	5–10	6,5	20	18	48
10–20	5,5	14	31	47	10–20	6,1	8	26	42
20–40	5,2	2	38	45	20–40	5,7	3	35	42

[a] pH do solo em solução de cloreto de cálcio.
[b] Fósforo extraído com resina.
[c] Acidez potencial.
[d] Capacidade de troca de cátions.

4.2.3 Gradiente de difusão e equilíbrio de difusão em finas membranas

O P lábil foi quantificado usando o método de gradiente de difusão em finas membranas (DGT) e o P da solução do solo foi quantificado usando o equilíbrio de difusão em finas membranas (DET) de acordo com o descrito por Menezes-Blackburn et al. (2016b). O dispositivo DGT possui duas partes essenciais: uma membrana que retém o P, conhecida como camada de fixação, e uma membrana que permite a difusão do P antes da sua fixação, conhecida como camada de difusão. Estas camadas são presas com uma cápsula de plástico, permitindo que apenas a camada

difusiva fique exposta por uma janela de exposição circular (2,54 cm^2). Para evitar entupimentos e danos à camada difusiva, uma membrana de filtro (0,45 µm) é usada. A camada de fixação (0,60 mm de espessura) é colocada por baixo da camada de difusão (0,78 mm de espessura), e o filtro (0,13 mm de espessura) é colocado por cima da camada de difusão. O dispositivo DET contém apenas a camada difusiva e o filtro, acondicionados em cápsulas similares às usadas para os DGTs. As camadas de fixação e difusão são compostas de hidrogel de poliacrilamida reticulada com agarose. Para preparar as camadas, 70 µL de persulfato de amônia (10%) e 20 µL do catalisador tetrametiletilenodiamina (TEMED) foram adicionadas em 10 mL de solução de acrilamida contendo reticulantes (DGT Research Ltd., Lancaster, Reino Unido). A solução preparada foi moldada entre duas placas de vidro separadas por um espaçador plástico e colocadas para polimerizar. Com o propósito de preparar a camada de fixação, os géis foram colocados em solução de cloreto de ferro ($FeCl_3$) 0,1 mmol L^{-1}, de acordo com Santner et al. (2010). Após cortar os géis de fixação, cada pedaço do gel foi colocado em uma solução tampão preparada com ácido 2-(N-morfolino) etanosulfônico hidratado (MES) 0,05 mol L^{-1}, por 2 horas. As camadas de fixação foram lavadas três vezes (com intervalos de duas horas) com água ultrapura Milli-Q (MQ) (Millipore, Massachusetts, EUA).

Amostras de solo (80 g) foram colocadas em frascos plásticos e molhadas com água MQ até aproximadamente 50% da capacidade de campo e incubadas por 72 h a 24–25ºC, para re-estabelecer a atividade microbiana. Após a incubação, foi preparada a pasta de saturação do solo pela adição de água MQ e misturando o solo até que a capacidade máxima de retenção de água fosse alcançada (Zhang et al., 1998). Os dispositivos DET foram implantados na pasta de saturação do solo por 24 h. No dia seguinte, os dispositivos DGT foram implantados nas mesmas condições por 48 h. As camadas de difusão e fixação dos dispositivos DET e DGT, respectivamente, foram eluídas em 0,5 mL de solução com H_2SO_4 0,25 mol L^{-1}. Os dispositivos DGT e DET foram implantados em duplicatas para cada repetição experimental. A concentração de P no eluente foi determinada usando o método do verde de malaquita (Van Veldhoven e Mannaerts, 1987). A concentração do P na camada de difusão do dispositivo DET (P_{DET}) é expressa como a concentração de P em equilíbrio com a solução do solo, representando assim a concentração do P na solução do solo. A concentração do P lábil na interface do solo e o dispositivo DGT (P_{DGT}) foi calculada usando a equação 1 (Zhang e Davison, 1995).

$$P_{DGT} = \frac{M\Delta g}{DAt} \quad (1)$$

Na equação 1, M é a massa de P acumulada na camada de fixação, A é área da janela de exposição do DGT (2,54 cm^2), t é o tempo de implantação (48h), Δg é a espessura total do filtro e das camadas de fixação e difusão (0,91 mm), e D é o coeficiente de difusão do P na camada de difusão (6,05E-6 cm^2 s^{-1} a 25ºC).

A razão (R) entre a concentração do P_{DGT} e o P_{DET} foi calculada de acordo com a equação 2. Essa razão é indicativa da capacidade de fornecimento de P pelo solo considerando a difusão e o suprimento do P pela fase sólida.

$$R = \frac{P_{DGT}}{P_{DET}} \quad (2)$$

A razão entre o P_{DGT} e o P_{DET} que considera apenas o suprimento de P do solo para o dispositivo DGT por meio da difusão (R_{dif}) foi calculado usando um modelo numérico conhecido como DIFS (Harper et al., 2000). Alguns parâmetros foram calculados para aplicação do modelo DIFS, como a concentração de partículas no solo (P_c), porosidade do solo (ϕ), coeficiente de difusão de P no solo (D_s), de acordo com Harper et al. (1998). Para simular um cenário em que ocorre apenas difusão do P da solução do solo para a camada de fixação, sem contribuição da fase sólida do solo, foi atribuído parâmetros de ressuprimento extremamente baixos (K_d muito baixo, e T_c muito alto) no modelo DIFS; em que que K_d é coeficiente de partição entre o P da fase sólida e da fase líquida do solo; e, o T_c é o tempo levado pelos componentes do K_d para alcançar 63% do equilíbrio após a concentração da solução ser esgotada à zero, também descrito como o tempo de resposta do sistema (Honeyman e Santschi, 1988). Assumindo-se que o P_{resina} é uma estimativa do P lábil da fase sólida do solo, o K_d foi calculado como P_{resina}/P_{DGT}. O suprimento relativo de P apenas pela fase sólida ($R-R_{dif}$) foi calculado subtraindo o valor da razão R_{dif} da razão R.

O P_{DGT} pode ser convertido em uma concentração efetiva (P_E) usando a equação 3 (Zhang et al., 2001), para representar o P disponível tanto da solução do solo quanto o P lábil da fase sólida.

$$P_E = \frac{P_{DGT}}{R_{dif}} \quad (3)$$

Por meio do modelo DIFS, o T_c foi obtido, e assim a constante da taxa de dessorção (K_{-1}) foi estimada de acordo com a equação 4 (Harper et al., 1998);

$$K_{-1} = \frac{1}{T_c\,(1+K_d P_c)} \quad (4)$$

4.2.4 Fósforo na biomassa microbiana

A análise com DGT/DET foi conduzida em solo não esterilizado com o propósito de ter uma melhor representação das condições naturais do solo. Portanto, parte do P dessorvido pode ser interceptado e imobilizado pela biomassa microbiana antes de ser acumulado na camada de fixação do DGT. A análise do P na biomassa microbiana ($P_{microbiano}$) foi analisado simultaneamente à análise com DGT/DET com o objetivo de verificar se as mudanças observadas na mobilidade e disponibilidade do P ocorreram em função da imobilização do P pela comunidade microbiana do solo. O $P_{microbiano}$ foi quantificado de acordo com as modificações propostas por Stutter et al. (2015) sobre o método descrito por Mclaughlin et al. (1986), usando a mesma pasta de saturação preparada para as análises com DGT e DET. Quadruplicatas da pasta de saturação (equivalente a 1 g de solo seco) foram extraídas por 16 h em 10 mL de água MQ com resinas de troca aniônica na forma de lâmina, com e sem a adição de 0,4 mL de hexanol. Após 16 h, as resinas foram eluídas com ácido clorídrico (HCl) 0,5 mol L^{-1} e a concentração de P foi determinada com o método do verde de malaquita. O $P_{microbiano}$ foi estimado pela diferença entre as amostras extraídas com e sem hexanol. Um fator de correção foi determinado para considerar a adsorção do P na fase sólida do solo durante a extração, por meio da adição de um padrão de 20 mg g^{-1} de P pouco antes da adição das resinas.

4.2.5 Análise estatística

Os dados de cada profundidade do solo foram submetidos à análise de homogeneidade de variância pelo teste de Levene, e à análise de variância pelo teste F ($p < 0,05$), considerando o delineamento em blocos inteiramente casualizados no esquema fatorial 2 × 3, com quatro repetições. As médias foram comparadas pelo teste t de Student ($p < 0,05$). Todas as análises foram realizadas utilizando o software SAS, versão 9.4 (SAS Inst., Carolina do Norte, EUA).

4.3 Resultados

4.3.1 Gradiente de difusão e equilíbrio de difusão em finas membranas

As diferenças entre o solo cultivado com braquiária e pousio foram observadas principalmente nas camadas do solo abaixo de 5 cm de profundidade. A concentração do P_{DET} (concentração na solução do solo) foi menor após a braquiária do que após o pousio na profundidade de 5–10 cm do solo independentemente das doses de P. Em 2015, a concentração do P_{DET} nas camadas de 10–20 e 20–40 cm de profundidade foram menores após a braquiária do que o pousio quando 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 foram aplicados (Tabela 14).

Tabela 14 – Concentração de P na solução do solo (P_{DET}) e concentração efetiva de P (P_E) em quatro profundidades do solo em função do cultivo de braquiária ruziziensis e doses de P, em 2014 e 2015.

Entressafra	Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)			Média	Entressafra	Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)			Média
	0	30	60			0	30	60	
		2014					2015		
---------- P_{DET} (µg L^{-1}) ----------									
		0–5 cm					0–5 cm		
Braquiária	7,4	29,1	28,6	21,7 ns	Braquiária	26,3	40,7	56,6	41,2 ns
Pousio	13,4	28,0	36,5	26,0 ns	Pousio	36,2	50,4	55,9	47,5 ns
Média	10,4 b[a]	28,6 a	32,6 a		Média	31,2 b	45,5 ab	56,3 a	
		5–10 cm					5–10 cm		
Braquiária	11,7	19,4	25,4	18,8 B	Braquiária	12,3	13,1	26,2	17,2 B
Pousio	21,1	17,0	40,1	26,1 A	Pousio	12,1	19,5	31,7	21,1 A
Média	16,4 b	18,2 b	32,8 a		Média	12,2 b	16,3 b	28,9 a	
		10–20 cm					10–20 cm		
Braquiária	6,0	11,1	16,5	11,2 ns	Braquiária	8,7 Aa	9,6 Aa	11,0 Ba	9,8
Pousio	8,3	8,7	19,5	12,2 ns	Pousio	5,9 Bb	8,2 Ab	24,0 Aa	12,7
Média	7,1 b	9,9 b	18,0 a		Média	7,3	8,9	17,5	
		20–40 cm					20–40 cm		
Braquiária	18,2 Aab	19,2 Aa	14,6 Ab	17,3	Braquiária	9,9 Ab	14,6 Aa	11,1 Bb	11,9
Pousio	17,2 Aa	13,1 Ba	16,7 Aa	15,7	Pousio	8,8 Ab	7,4 Bb	19,5 Aa	11,9
Média	17,7	16,2	15,6		Média	9,3	11,0	15,3	
---------- P_E (mg L^{-1}) ----------									
		0–5 cm					0–5 cm		
Braquiária	0,25	0,58	0,77	0,53 ns	Braquiária	0,43	0,96	1,10	0,83 ns
Pousio	0,41	0,60	0,92	0,64 ns	Pousio	0,52	0,83	1,08	0,81 ns
Média	0,33 c	0,59 b	0,85 a		Média	0,47 c	0,90 b	1,09 a	
		5–10 cm					5–10 cm		
Braquiária	0,06 Ab	0,04 Ab	0,31 Ba	0,13	Braquiária	0,04	0,06	0,60	0,24 B
Pousio	0,18 Ab	0,16 Ab	0,78 Aa	0,37	Pousio	0,11	0,30	1,02	0,48 A
Média	0,12	0,10	0,54		Média	0,08 b	0,18 b	0,81 a	
		10–20 cm					10–20 cm		
Braquiária	0,04	0,06	0,15	0,08 B	Braquiária	0,03 Ab	0,04 Bb	0,10 Ba	0,06
Pousio	0,06	0,15	0,35	0,18 A	Pousio	0,05 Ac	0,11 Ab	0,44 Aa	0,20
Média	0,05 b	0,11 b	0,29 a		Média	0,04	0,07	0,27	
		20–40 cm					20–40 cm		
Braquiária	0,03 Ba	0,02 Bb	0,04 Aa	0,03	Braquiária	0,03	0,04	0,05	0,04 B
Pousio	0,04 Aab	0,05 Aa	0,03 Ab	0,04	Pousio	0,06	0,08	0,07	0,07 A
Média	0,04	0,03	0,03		Média	0,05 b	0,06 a	0,06 a	

[a] Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha e maiúsculas na coluna são significativamente diferentes, teste t ($p < 0.05$). ns Não significativo.

A concentração do P_E foi menor após a braquiária do que o pousio independentemente das doses de P, na camada de 10–20 cm de profundidade em 2014, e nas camadas de 5–10 e 20–40 cm em 2015. Nas outras profundidades do solo, o P_E foi menor após a braquiária do que após o pousio quando houve aplicação de P (Tabela 14). A proporção do P_E reabastecido pela fase sólida (P_E-P_{DET}) foi claramente maior do que o P da solução do solo (P_{DET}) (Figura 15).

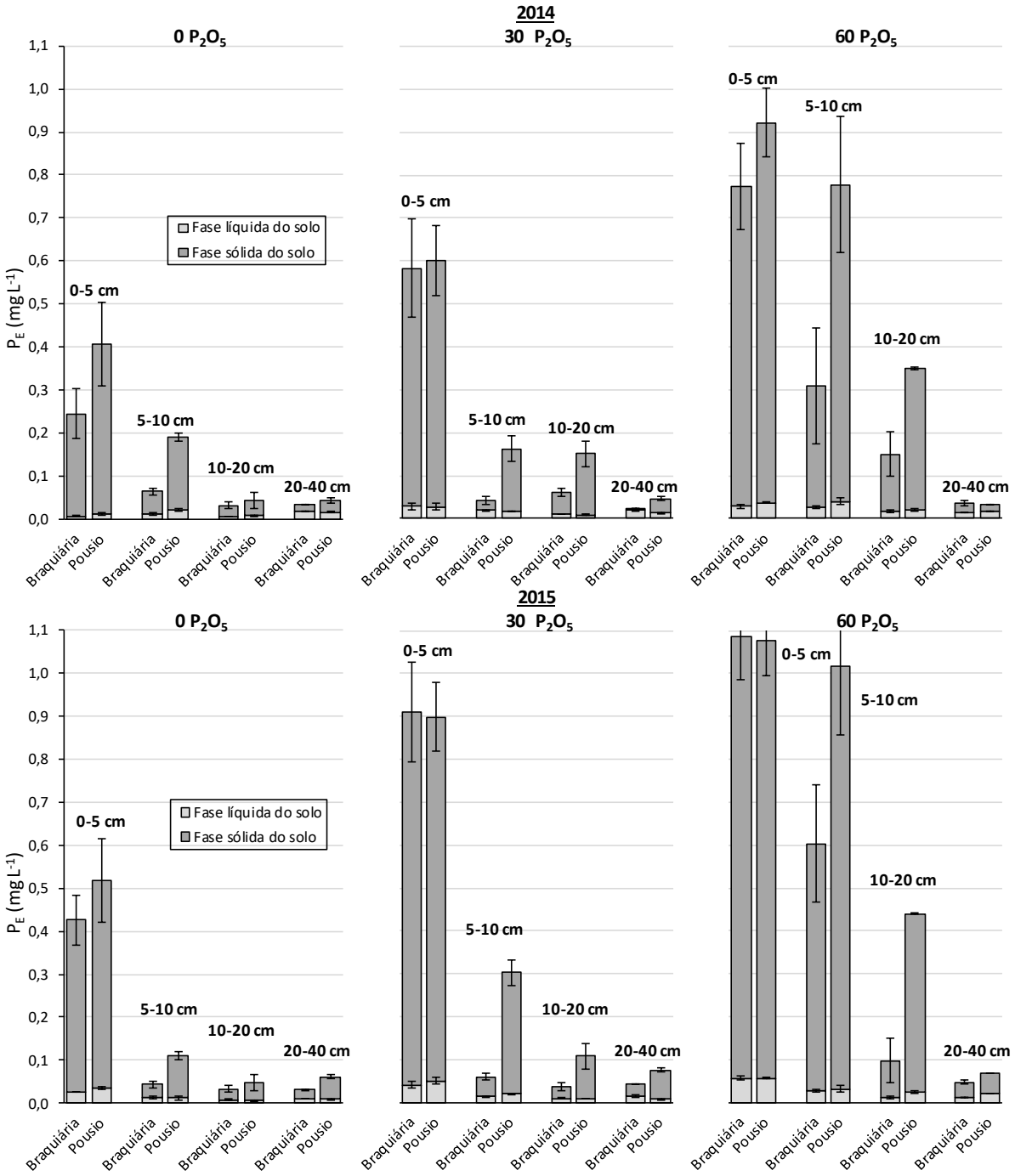

Figura 15 – Concentração efetiva de fósforo (P_E) no solo em função do cultivo de braquiária ruziziensis ou pousio e doses de P (0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5) em quatro profundidades do solo, em 2014 e 2105. A contribuição da fase líquida do solo (P_{DET}) e a fase sólida do solo (P_E-P_{DET}) estão destacadas em cinza claro e cinza escuro, respectivamente. As barras de erro representam o erro padrão.

O cultivo de braquiária resultou em menor concentração do P_{DGT} do que o pousio, abaixo de 5 cm de profundidade do solo, em 2014 e 2015 (Tabela 15). A braquiária também resultou em menor ressuprimento da fase sólida do solo, abaixo de 5 cm de profundidade, em ambos os anos, principalmente nos solos que receberam aplicação de P. Interessantemente, o K_d foi maior após a braquiária do que após o pousio nas camadas de 0–5 cm em 2014 e 5–10 cm em 2015, independentemente das doses de P, e nas camadas de 5–10 e 10–20 cm em 2014 e 2015, respectivamente, quando 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 foram aplicados.

Tabela 15 – Concentração de fósforo (P) na interface do solo e do dispositivo DGT (P_{DGT}) e potencial de ressuprimento de P (K_d) em quatro profundidades do solo em função do cultivo de braquiária ruziziensis e doses de P, em 2014 e 2015.

Entressafra	Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)			Média	Entressafra	Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)			Média
	0	30	60			0	30	60	
		2014					2015		
---------- P_{DGT} (µg L^{-1}) ----------									
		0–5 cm					0–5 cm		
Braquiária	5,1	12,6	16,7	11,5 ^{ns}	Braquiária	9,0	20,8	23,4	17,7 ^{ns}
Pousio	8,8	12,6	19,3	13,6 ^{ns}	Pousio	10,9	17,4	22,3	16,8 ^{ns}
Média	7,0 c[a]	12,6 b	18,0 a		Média	9,9 b	19,1 a	22,8 a	
		5–10 cm					5–10 cm		
Braquiária	0,7 Ab	0,8 Ab	5,8 Ba	2,4	Braquiária	0,9 Ab	1,3 Ab	12,7 Ba	5,0
Pousio	1,1 Ab	3,0 Ab	14,5 Aa	6,2	Pousio	2,3 Ab	6,3 Ab	20,9 Aa	9,8
Média	0,9	1,9	10,1		Média	1,6	3,8	16,8	
		10–20 cm					10–20 cm		
Braquiária	1,2	1,1	5,2	2,5 B	Braquiária	0,6 Ab	0,6 Bb	1,7 Ba	1,0
Pousio	3,3	2,8	5,5	3,8 A	Pousio	0,9 Ac	1,9 Ab	7,9 Aa	3,5
Média	2,2 b	1,9 b	5,3 a		Média	0,7	1,3	4,8	
		20–40 cm					20–40 cm		
Braquiária	0,8 Aa	0,5 Bb	0,8 Aa	0,7	Braquiária	0,7	0,9	0,9	0,8 B
Pousio	0,9 Aa	1,0 Aa	0,7 Ab	0,9	Pousio	1,4	1,6	1,6	1,5 A
Média	0,9	0,7	0,8		Média	1,0 b	1,2 a	1,3 a	
---------- K_d (cm^3 g^{-1}) ----------									
		0–5 cm					0–5 cm		
Braquiária	1842	770	976	1196 A	Braquiária	501	583	527	537 ^{ns}
Pousio	1216	758	713	896 B	Pousio	508	431	443	461 ^{ns}
Média	1529 a	764 b	845 b		Média	504 ^{ns}	507 ^{ns}	485 ^{ns}	
		5–10 cm					5–10 cm		
Braquiária	508 Aab	395 Ab	709 Aa	537	Braquiária	633	711	1123	822 A
Pousio	293 Ab	530 Aa	349 Bab	391	Pousio	582	546	667	598 B
Média	400	462	529		Média	607 b	628 b	895 a	
		10–20 cm					10–20 cm		
Braquiária	1002 Aa	415 Ab	457 Ab	625	Braquiária	1013 Aa	745 Aa	1267 Aa	1008
Pousio	579 Ba	656 Aa	392 Aa	542	Pousio	1306 Aa	508 Ab	347 Bb	720
Média	791	535	424		Média	1159	626	807	
		20–40 cm					20–40 cm		
Braquiária	155	131	250	179 ^{ns}	Braquiária	371	193	218	261 ^{ns}
Pousio	200	219	181	200 ^{ns}	Pousio	402	367	165	311 ^{ns}
Média	177 ^{ns}	175 ^{ns}	215 ^{ns}		Média	387 a	280 ab	192 b	

[a] Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha e maiúsculas na coluna são significativamente diferentes, teste t ($p < 0.05$). ^{ns} Não significativo.

A razão R entre o P_{DGT} e o P_{DET} foi menor após a braquiária do que o pousio nas camadas de 5–10 cm em 2014 e 2015, e 10–20 cm em 2015, independentemente das doses de P. Quando o P foi aplicado na dose de 30 kg ha^{-1} de P_2O_5 e quando o P não foi aplicado, o R calculado foi menor com a braquiária do que com pousio a 10–20 cm de profundidade em 2014, e a 20–40 cm em 2014 e 2015. No geral, o R_{dif} foi bastante baixo, cerca de apenas 0,02, consequentemente, o ressuprimento relativo da fase sólida do solo ($R-R_{dif}$) foi bastante similar ao valor de R (Tabela 16).

Tabela 16 – Razão (R) entre a concentração do P_{DGT} e P_{DET}, e o suprimento relativo da fase sólida do solo ($R\text{-}R_{dif}$) em quatro profundidades do solo em função do cultivo de braquiária ruziziensis e doses de P, em 2014 e 2015.

Entressafra	Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)			Média	Entressafra	Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)			Média
	0	30	60			0	30	60	
		2014					2015		
				R (P_{DGT}/P_{DET})					
		0–5 cm					0–5 cm		
Braquiária	0,58	0,48	0,60	0,55 ns	Braquiária	0,35	0,54	0,37	0,42 ns
Pousio	0,68	0,49	0,47	0,55 ns	Pousio	0,35	0,36	0,42	0,38 ns
Média	0,63 ns	0,49 ns	0,53 ns		Média	0,35 ns	0,45 ns	0,40 ns	
		5–10 cm					5–10 cm		
Braquiária	0,07	0,04	0,22	0,11 B[a]	Braquiária	0,07	0,11	0,25	0,15 B
Pousio	0,06	0,15	0,32	0,18 A	Pousio	0,19	0,32	0,42	0,31 A
Média	0,07 b	0,10 b	0,27 a		Média	0,13 b	0,22 b	0,34 a	
		10–20 cm					10–20 cm		
Braquiária	0,19 Bab	0,10 Bb	0,34 Aa	0,21	Braquiária	0,08	0,07	0,16	0,11 B
Pousio	0,40 Aa	0,35 Aa	0,25 Aa	0,33	Pousio	0,16	0,23	0,33	0,24 A
Média	0,30	0,23	0,29		Média	0,12 b	0,15 b	0,24 a	
		20–40 cm					20–40 cm		
Braquiária	0,04 Aa	0,03 Bb	0,05 Aa	0,04	Braquiária	0,07 Ba	0,06 Ba	0,09 Aa	0,07
Pousio	0,06 Ab	0,08 Aa	0,04 Ab	0,06	Pousio	0,17 Ab	0,22 Aa	0,08 Ac	0,16
Média	0,05	0,05	0,05		Média	0,12	0,14	0,08	
				$R\text{-}R_{dif}$					
		0–5 cm					0–5 cm		
Braquiária	0,56	0,46	0,58	0,53 ns	Braquiária	0,33	0,52	0,35	0,40 ns
Pousio	0,66	0,47	0,45	0,53 ns	Pousio	0,33	0,33	0,40	0,36 ns
Média	0,61 ns	0,46 ns	0,51 ns		Média	0,33 ns	0,43 ns	0,38 ns	
		5–10 cm					5–10 cm		
Braquiária	0,05	0,02	0,20	0,09 B	Braquiária	0,05	0,09	0,23	0,12 B
Pousio	0,04	0,14	0,30	0,16 A	Pousio	0,17	0,30	0,40	0,29 A
Média	0,05 b	0,08 b	0,25 a		Média	0,11 b	0,20 b	0,32 a	
		10–20 cm					10–20 cm		
Braquiária	0,17 Bab	0,08 Bb	0,32 Aa	0,19	Braquiária	0,06	0,06	0,14	0,09 B
Pousio	0,38 Aa	0,33 Aa	0,24 Aa	0,32	Pousio	0,14	0,21	0,31	0,22 A
Média	0,28	0,21	0,28		Média	0,10 b	0,13 b	0,23 a	
		20–40 cm					20–40 cm		
Braquiária	0,02 Aa	0,01 Bb	0,03 Aa	0,02	Braquiária	0,05 Ba	0,04 Ba	0,07 Aa	0,05
Pousio	0,04 Ab	0,06 Aa	0,02 Ab	0,04	Pousio	0,15 Ab	0,20 Aa	0,06 Ac	0,13
Média	0,03	0,03	0,03		Média	0,10	0,12	0,06	

[a] Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha e maiúsculas na coluna são significativamente diferentes, teste t ($p < 0.05$). ns Não significativo.

O suprimento de P para o DGT foi afetado pela rotação com braquiária, doses de P, e profundidade do solo, como observado nos valores de R de acordo com o tempo de implantação do dispositivo DGT (Figura 16). Na profundidade de 0–5 cm do solo, o suprimento de P pelo DGT foi constante após 1 hora de implantação em todos os tratamentos, o que é coerente com um alto ressuprimento de P pela fase sólida do solo. Por outro lado, na camada de 5–10 cm de profundidade, houve um pico de suprimento do P para o DGT seguido de um decréscimo na primeira hora de implantação, no solo que não recebeu aplicação de P, e na dose de 30 kg ha^{-1} de P_2O_5 quando a braquiária foi cultivada em 2014, enquanto que em 2015 o decréscimo no suprimento de P foi observado apenas quando a braquiária foi cultivada, com 0 e 30 kg ha^{-1} de P_2O_5. Na profundidade de 10–20 cm do solo, o decréscimo no suprimento de P também foi observado apenas quando a braquiária foi cultivada com 0 e 30 kg ha^{-1} de P_2O_5. Na profundidade de 20–40 cm do solo, a redução no suprimento de P foi observada em todos os tratamentos, mas apenas o solo em pousio recebendo aplicações de 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 teve um pequeno, mas constante suprimento de P em 2015.

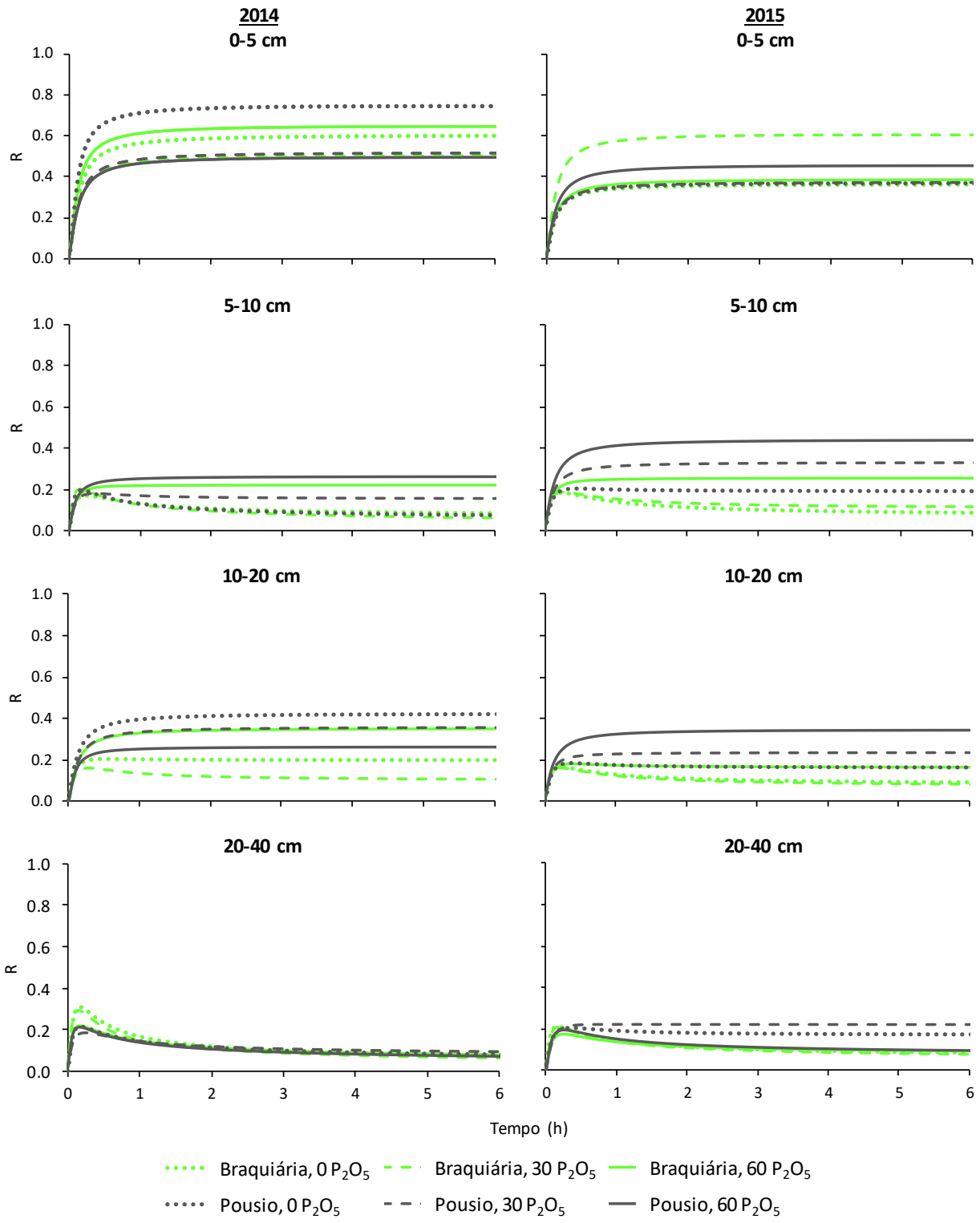

Figura 16 – Razão R de acordo com o tempo em quatro profundidades do solo em função do cultivo de braquiária ruziziensis ou pousio e doses de P (0, 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5), em 2014 e 2015.

4.3.2 Parâmetros calculados com o modelo DIFS

O T_c e K_{-1} foram afetados pelo cultivo de braquiária na entressafra e doses de P, em ambos os anos e em todas as profundidades. No geral, o T_c foi maior após o cultivo de braquiária do que após o pousio quando o P não foi aplicado ou aplicado na dose de 30 kg ha^{-1} de P_2O_5. Nas parcelas com braquiária, a aplicação de 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 resultou em menor T_c do que outras doses de P, enquanto que nas parcelas em pousio a aplicação de 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 resultou em maior T_c do que as outras doses (Tabela 17).

Em 2014, a dessorção do P foi menor após a braquiária do que após o pousio na camada de 0–5 cm, quando houve aplicação de 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5, e nas camadas de 10–20 e 20–40 cm quando 30 kg ha^{-1} de P_2O_5 foram aplicados. Em 2015, o K_{-1} foi menor após a braquiária do que após o pousio com 30 e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 nas camadas de 5–10 e 10–20 cm do solo, e a 20–40 cm quando 30 kg ha^{-1} foram aplicados (Tabela 17).

Tabela 17 – Tempo de resposta do sistema (T_c) e constante de dessorção (K_{-1}) em quatro profundidades do solo em função do cultivo de braquiária ruziensis e doses de P, em 2014 e 2015.

Entressafra	Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)			Média	Entressafra	Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)			Média
	0	30	60			0	30	60	
		2014					2015		
				T_c (s^{-1})					
		0–5 cm					0–5 cm		
Braquiária	7,8E+01 Ab[a]	1,4E+02 Aa	5,9E+01 Bb	9,1E+01	Braquiária	3,1E+02 Aa	7,2E+01 Bb	2,7E+02 Aa	2,2E+02
Pousio	3,2E+01 Bb	1,2E+02 Aa	1,4E+02 Aa	9,6E+01	Pousio	3,0E+02 Aa	2,9E+02 Aab	1,7E+02 Ab	2,5E+02
Média	5,5E+01	1,3E+02	9,7E+01		Média	3,1E+02	1,8E+02	2,2E+02	
		5–10 cm					5–10 cm		
Braquiária	1,1E+04 Aab	4,2E+04 Aa	8,8E+02 Ab	1,8E+04	Braquiária	5,4E+03 Aa	5,3E+03 Aa	7,5E+02 Ab	3,8E+03
Pousio	1,9E+04 Aa	1,9E+03 Bb	5,8E+02 Ab	7,1E+03	Pousio	1,4E+03 Ba	3,8E+02 Ba	1,9E+02 Aa	6,6E+02
Média	1,5E+04	2,2E+04	7,3E+02		Média	3,4E+03	2,8E+03	4,7E+02	
		10–20 cm					10–20 cm		
Braquiária	1,2E+03 Ab	4,0E+03 Aa	2,8E+02 Ac	1,8E+03	Braquiária	7,0E+03 Aa	8,5E+03 Aa	1,6E+03 Ab	5,7E+03
Pousio	1,8E+02 Bb	2,7E+02 Bab	5,7E+02 Aa	3,4E+02	Pousio	1,7E+03 Ba	6,8E+02 Ba	2,8E+02 Aa	9,0E+02
Média	7,0E+02	2,1E+03	4,2E+02		Média	4,4E+03	4,6E+03	9,2E+02	
		20–40 cm					20–40 cm		
Braquiária	9,0E+04 Ab	3,7E+05 Aa	3,0E+04 Ac	1,6E+05	Braquiária	1,8E+04 Aa	2,1E+04 Aa	8,2E+03 Ab	1,5E+04
Pousio	2,3E+04 Bab	1,1E+04 Bb	4,6E+04 Aa	2,7E+04	Pousio	2,2E+03 Bb	1,0E+03 Bb	1,2E+04 Aa	5,1E+03
Média	5,7E+04	1,9E+05	3,8E+04		Média	9,9E+03	1,1E+04	1,0E+04	
				K_{-1} (s^{-1})					
		0–5 cm					0–5 cm		
Braquiária	1,7E-06 Bb	2,5E-06 Aab	4,3E-06 Aa	2,8E-06	Braquiária	1,6E-06 Ab	6,0E-06 Aa	1,8E-06 Ab	3,1E-06
Pousio	6,4E-06 Aa	2,7E-06 Ab	2,5E-06 Ab	3,9E-06	Pousio	1,6E-06 Aa	2,0E-06 Bb	3,2E-06 Aa	2,2E-06
Média	4,1E-06	2,6E-06	3,4E-06		Média	1,6E-06	4,0E-06	2,5E-06	
		5–10 cm					5–10 cm		
Braquiária	4,0E-08 Ab	1,3E-08 Bb	3,4E-07 Ba	1,3E-07	Braquiária	7,2E-08 Aa	6,7E-08 Ba	3,0E-07 Ba	1,4E-07
Pousio	3,9E-08 Ab	2,1E-07 Ab	1,1E-06 Aa	4,3E-07	Pousio	3,0E-07 Ac	1,2E-06 Ab	1,9E-06 Aa	1,1E-06
Média	4,0E-08	1,1E-07	7,0E-07		Média	1,8E-07	6,1E-07	1,1E-06	
		10–20 cm					10–20 cm		
Braquiária	1,8E-07 Bb	1,2E-07 Bb	1,6E-06 Aa	6,4E-07	Braquiária	2,8E-08 Aa	3,1E-08 Ba	1,0E-07 Ba	5,3E-08
Pousio	2,0E-06 Aa	1,2E-06 Ab	9,3E-07 Ab	1,4E-06	Pousio	9,3E-08 Ac	5,7E-07 Ab	2,1E-06 Aa	9,1E-07
Média	1,1E-06	6,5E-07	1,3E-06		Média	6,0E-08	3,0E-07	1,1E-06	
		20–40 cm					20–40 cm		
Braquiária	2,1E-08 Ba	5,0E-09 Bb	3,4E-08 Aa	2,0E-08	Braquiária	3,7E-08 Bb	5,9E-08 Bab	1,3E-07 Aa	7,4E-08
Pousio	5,5E-08 Ab	1,0E-07 Aa	3,0E-08 Ab	6,3E-08	Pousio	3,1E-07 Ab	6,4E-07 Aa	1,4E-07 Ac	3,6E-07
Média	3,8E-08	5,4E-08	3,2E-08		Média	1,7E-07	3,5E-07	1,3E-07	

[a] Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha e maiúsculas na coluna são significativamente diferentes, teste t ($p < 0.05$).

4.3.3 Fósforo na biomassa microbiana

A braquiária também afetou o $P_{microbiano}$ de acordo com a aplicação de P. Na profundidade de 0–5 cm, o cultivo de braquiária resultou em maior concentração de $P_{microbiano}$ do que o pousio apenas quando não houve aplicação de P. Na camada de 10–20 cm do solo, a braquiária resultou em uma menor concentração de $P_{microbiano}$ do que o pousio quando o P foi aplicado na dose de 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 (Tabela 18). Na camada de 5–10 cm do solo, a concentração de $P_{microbiano}$ foi apenas afetada pelas doses de P, com uma menor concentração quando o P não foi aplicado.

Tabela 18 – Concentração de fósforo na biomassa microbiana ($P_{microbiano}$) em quatro profundidades do solo em função do cultivo de braquiária ruziziensis e doses de P, em 2014 e 2015.

Entressafra	Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)			Média	Entressafra	Doses de P (kg ha^{-1} de P_2O_5)			Média
	0	30	60			0	30	60	
		2014					2015		
				$P_{microbiano}$ (mg kg^{-1})					
		0–5 cm					0–5 cm		
Braquiária	2,39 Aa[a]	1,26 Ab	0,77 Ab	1,48	Braquiária	2,27 Aa	1,75 Ab	0,78 Ab	1,60
Pousio	1,43 Ba	1,31 Aa	1,12 Aa	1,29	Pousio	1,17 Ba	1,58 Aa	0,78 Aa	1,18
Média	1,91	1,29	0,95		Média	1,72	1,67	0,78	
		5–10 cm					5–10 cm		
Braquiária	0,88	1,28	2,85	1,67 ns	Braquiária	1,13	1,48	1,60	1,41 ns
Pousio	1,08	1,78	3,72	2,19 ns	Pousio	0,96	1,37	1,55	1,29 ns
Média	0,98 b	1,53 b	3,29 a		Média	1,04 b	1,43 a	1,58 a	
		10–20 cm					10–20 cm		
Braquiária	0,37 Ab	0,78 Aa	0,27 Bb	0,48	Braquiária	0,48 Aa	0,47 Aa	0,25 Bb	0,40
Pousio	0,35 Ab	0,57 Ba	0,64 Aa	0,52	Pousio	0,36 Bb	0,30 Bb	0,69 Aa	0,45
Média	0,36	0,68	0,46		Média	0,42	0,39	0,47	
		20–40 cm					20–40 cm		
Braquiária	0,25	0,29	0,23 ns	0,26	Braquiária	0,13 Bb	0,27 Aa	0,24 Aa	0,21
Pousio	0,28	0,23	0,29 ns	0,27	Pousio	0,31 Aa	0,17 Bc	0,22 Ab	0,23
Média	0,27 ns	0,26 ns	0,26 ns		Média	0,22	0,22	0,23	

[a] Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha e maiúsculas na coluna são significativamente diferentes, teste t ($p < 0.05$). ns Não significativo.

4.4 Discussão

O frequente acúmulo de P nas camadas mais superficiais de solos sob SSD resultou em maiores concentrações de P_{DET} e P_{DGT}, em todos os tratamentos. De acordo com Pavinato et al. (2009), a estratificação da distribuição do P no perfil do solo sob SSD é acentuada devido ao baixo revolvimento do solo em comparação com o sistema convencional de cultivo, assim como pela aplicação de fertilizantes fosfatados, decomposição dos resíduos de plantas na superfície do solo, e à baixa mobilidade do P no solo. Os valores do P_{DET} foram cerca de 75% menores na camada de 20–40 cm de profundidade com relação à camada de 0–5 cm, enquanto que o P_{DGT} foi 95% menor na camada de 20–40 cm com relação à camada mais superficial do solo, indicando uma fixação de P mais forte e menor biodisponibilidade de P na camada de 20–40 cm de profundidade do que na camada mais próxima da superfície, como já esperado. A menor concentração do P_{DGT} nas camadas mais profundas do solo comparada com as mais rasas é um indicativo de que não só o fornecimento de P pela solução do solo é baixo, mas também que o reabastecimento de P pela fase sólida do solo é reduzido (Lehto, 2016), como o observado na Figura 15.

A braquiária provavelmente resulta em imobilização do P e redução deste nutriente na solução do solo, uma vez que o P_{DET} foi menor após a braquiária. De acordo com Almeida et al. (2018b), a braquiária ruziziensis é responsiva a aplicação de P, com alto acúmulo de P em sua biomassa, possivelmente devido a um maior crescimento do seu sistema radicular, o que consequentemente pode reduzir o P_{DET} até nas camadas mais profundas do solo, como o observado na profundidade de 20–40 cm em 2015. O esgotamento do P nas camadas mais profundas do solo já foi reportado em solo cultivado com braquiária, o que pode ser uma estratégia para ciclar o P para camadas mais próximas da superfície (Almeida e Rosolem, 2016). Porém, nenhum aumento na concentração de P_{DET} e P_{DGT} foi observado nas camadas mais próximas da superfície do solo após o cultivo de braquiária. De acordo com a primeira lei de Fick (lei da difusão), o fluxo de P é proporcional ao gradiente de concentração do P, sendo que o fluxo é maior quando a concentração de P na solução do solo é alta e a concentração na superfície das raízes é baixa. Com isto, uma vez que o P_{DET} é reduzido, o movimento de P para o DGT e para as raízes será afetado, resultando em uma menor concentração do P_{DGT} (Lehto, 2016) e uma menor biodisponibilidade de P, uma vez que a difusão do P é o principal mecanismo pelo qual o P se move em direção às raízes (Barber et al., 1963).

O P_E é uma concentração hipotética do P necessário para fornecer P para o dispositivo DGT apenas por difusão (Zhang et al., 2001), e representa o P lábil (P da solução + P dessorvível). Os valores observados de P_E também foram menores após a braquiária do que após o pousio. A contribuição relativa da difusão (R_{dif}) foi bastante baixa, e teve pouca variação entre os tratamentos devido à similaridade da porosidade e concentração de partículas entre os tratamentos, assim como o observado por Mason et al. (2010). Isto significa que o reabastecimento de P pela fase sólida do solo foi o principal processo afetando a concentração do P_{DGT}, o que é claramente observado na Figura 15.

A rotação com braquiária por longo prazo pode ter resultado em um aumento dos sítios de adsorção dos compostos de Fe e Al no solo, devido às interações com a alta concentração de MOS (Almeida et al., 2018a), causando uma maior adsorção de P e menor reabastecimento de P para a solução do solo pela fase sólida. A razão R é um indicativo da capacidade de fornecimento de P para o dispositivo DGT (Harper et al., 2000). De acordo com Zhang et al. (1998), o valor máximo de R é observado dentro da primeira hora de implantação do DGT, e pode alcançar um valor constante ou decrescer progressivamente. A extensão em que este decréscimo ocorre é determinada pela habilidade de reabastecimento de P pela fase sólida (Zhang et al., 1998), e foi claramente diferente entre os tratamentos e profundidades do solo (Figura 16). No geral, a profundidade de 0–5 cm tem uma maior concentração de P, o que proporciona condições para uma maior dessorção de P e para obter um acúmulo constante de P na camada de fixação do DGT, sendo este um caso designado como caso sustentado com curso estável, distinguido por um alto K_d e um T_c intermediário, de acordo com Harper et al. (2000). Quando a fase sólida do solo não é capaz de reabastecer o P em grandes quantidades para a solução do solo, o P da solução é reduzido, a razão R é reduzida, e observa-se o caso parcialmente sustentado sem curso estável, de acordo com Harper et al. (2000), assim como o observado nas camadas de 5–10 e 10–20 cm de profundidade após o cultivo de braquiária. Sendo assim, o cultivo de braquiária também reduz o reabastecimento de P pela fase sólida do solo, resultando em redução da concentração do P da solução do solo, e consequentemente menores valores da razão R, independentemente das doses de P (Tabela 16). Na camada de 20–40 cm, o caso de difusão foi observado, o qual é caracterizado por um alto fluxo inicial de P em direção a camada de difusão, seguido por um acentuado decréscimo do R devido à falta de reabastecimento de P pela fase

sólida do solo (Harper et al., 2000). Assim como o observado por Santner et al. (2015), quando os sítios de adsorção do P estão pouco saturados, como na camada de 20–40 cm do solo, os sítios não ocupados com P atuam como um dreno muito forte, reduzindo a difusão e desacelerando a dessorção.

No geral, a contribuição da difusão do P no solo estudado foi muito menor do que o fornecimento da fase sólida do solo, desde que o R_{dif} foi muito menor do que o R. A difusão de P no solo e consequente disponibilidade do P é afetada pela umidade, densidade, mineralogia, concentração de P na solução do solo e atividade microbiana (Barber, 1995; Hinsinger et al., 2011). A alta adsorção de P nos óxidos de Fe e Al neste solo altamente intemperizados (Almeida et al., 2018a), resulta em menor P_{DET} e reduz o fluxo de difusão, afetando o movimento do P em direção as raízes (Raghothama e Karthikeyan, 2005). Os microorganismos do solo podem reduzir a disponibilidade de P pela imobilização do P na biomassa microbiana (Schachtman et al., 1998). Contudo, o $P_{microbiano}$ parece não estar relacionado com o baixo P_{DET}, principalmente no solo cultivado com braquiária. O aumento da dose de P resulta em um aumento da absorção de P e crescimento da braquiária (Almeida et al., 2018b), competindo com os microorganismos pelo P, e assim, indicando que o P é um nutriente limitante para a proliferação dos microorganismos quando a braquiária é cultivada (Nziguheba et al., 1998), e não o inverso. No solo mantido em pousio durante a entressafra, provavelmente há uma menor competição de plantas com microorganismos pelo P do solo, e a concentração de $P_{microbiano}$ aumenta com a aplicação de P. Vale a pena mencionar que os dados de $P_{microbiano}$ observados são pouco conclusivos, no entanto, o solo com braquiária e o solo com pousio apresentam uma tendência oposta na concentração do $P_{microbiano}$ de acordo com a aplicação de P. Com a braquiária, a concentração de $P_{microbiano}$ foi maior sem aplicação de P enquanto que no solo com pousio a concentração de $P_{microbiano}$ foi maior com a aplicação de P. Normalmente, assume-se que os microorganismos na rizosfera são capazes de adquirir o P antes das plantas (Menezes-Blackburn et al., 2016a), sendo assim, a menor concentração do $P_{microbiano}$ pode ser um indicativo de que a rizosfera da braquiária possui condições para um baixo desenvolvimento microbiano quando há aplicação de P. Vários mecanismos de mobilização de P por rizobactérias já foram descritos (Menezes-Blackburn et al., 2013; George et al., 2017) e as condições na rizosfera da braquiária para a proliferação da comunidade microbiana pode ter sido uma causa indireta para a menor cinética de dessorção. Porém, esta hipótese é bem

especulativa e precisa ser melhor explorada em novos estudos que detalhem o efeito da braquiária na abundância e atividade dos microorganismos na rizosfera.

As concentrações de P_{DET} e P_{DGT} no presente estudo foram muito abaixo do que o reportado por Menezes-Blackburn et al. (2016b) em vários solos do Reino Unido. Os menores valores de P_{DET} e P_{DGT} reportados por Menezes-Blackburn et al. (2016b) foram cerca de 10 e 4 vezes maior do que o observado no presente estudo, respectivamente. Contudo, as concentrações de P_{DGT} determinadas neste presente experimento estão dentro da faixa de valores observada por Six et al. (2014) em solos intemperizados do Quênia, com aplicações de superfosfato triplo e fertilizantes orgânicos, e também semelhante com o observado por Mason et al. (2010) em alguns solos da Austrália. As diferenças observadas entre o P_{DGT} no solo avaliado no presente estudo e o nos solos do Reino Unido são provavelmente devido à alta adsorção de P em minerais secundários e precipitação com Fe e Al que ocorrem nos solos intemperizados do Brasil (Lindsay, 1979), e também devido à aplicação de P por longo prazo resultando em uma grande reserva de P nos solos do Reino Unido (Menezes-Blackburn et al., 2017), contribuindo para altas taxas de dessorção de P (Shariatmadari et al., 2006).

De acordo com Menezes-Blackburn et al. (2016b), o K_d representa o gradiente entre o P lábil na fase sólida do solo (adsorvido e/ou precipitado) e o P da solução do solo, assim representando as formas de P inorgânico facilmente dessorvíveis e prontamente disponíveis. Supreendentemente, a braquiária resultou em aumento do K_d, devido ao menor P_{DET} após a braquiária do que o pousio. Este alto K_d no solo com braquiária significa que tanto o P está sendo superestimado na fase sólida resultando em maior concentração do P_{resina}, quanto que não há os mesmos fatores que facilitam os mecanismos de mobilização de P presentes no solo com pousio resultando em menor concentração do P na solução do solo quando a braquiária é cultivada.

A disponibilidade de P por meio do reabastecimento pela fase sólida do solo pode ser estimado com o T_c e o K_{-1} (Zhang et al., 1998; Mason et al., 2010). O T_c estimado pode ser considerado como o tempo necessário para que os componentes do K_d alcancem 63% do equilíbrio após a concentração da solução ser esgotada à zero (Honeyman e Santschi, 1988), e de acordo com os valores obtidos com o modelo DIFS, o cultivo de braquiária resulta em um tempo mais longo para que o sistema atinja o equilíbrio. De acordo com Heidari et al. (2017), a absorção de P é altamente correlacionada com a constante de dessorção de P no solo. Sendo assim, o menor K_{-}

$_1$ e o maior T_c observados com a braquiária do que no solo com pousio também resultam em uma menor disponibilidade de P, o que está de acordo com o observado por Almeida et al. (2018b).

Diferente do aumento da disponibilidade de P observado em outros estudos usando outras culturas de cobertura, como o tremoço (*Lupinus albus* L.) (Braum e Helmke, 1995) e aveia (*Avena sativa* L.) (Redel et al., 2007), o uso da braquiária como cultura de cobertura na entressafra reduziu a disponibilidade de P como o apresentado com os menores valores de P_{DGT}. O uso do método DGT proporcionou novos conhecimentos sobre a disponibilidade de P, considerando os processos de difusão e ressuprimento do P, os quais não foram considerados em prévios estudos que encontraram incoerências entre a alta disponibilidade de P estimada com outros métodos de análise de P e a baixa produtividade das culturas subsequentes à braquiária (Merlin et al., 2013; Janegitz et al., 2016; Almeida et al., 2018b). Portanto, o uso de DGT pode ser uma ferramenta promissora para promover uma melhor estimativa da disponibilidade de P para plantas de soja, no sistema de rotação soja-braquiária.

4.5 Conclusão

O cultivo de braquiária no longo prazo, como cultura de cobertura durante a entressafra de soja, reduz a mobilidade de P independente da aplicação de P no solo, devido a redução da difusão e ressuprimento do P pela fase sólida do solo, em comparação com o pousio. Com o cultivo de braquiária, a concentração de P na solução do solo não pode ser sustentado nos mesmos níveis que no solo com pousio durante o contínuo esgotamento de P promovido pelo DGT (e raízes), mesmo em altos gradientes de concentração de P entre a fase líquida e a fase sólida do solo. Isto indica que tanto o solo cultivado com braquiária possui uma adsorção de P com maior energia, quanto que o solo com braquiária não apresenta a mesma condição de mobilidade de P que o solo com pousio. O ressuprimento de P pela fase sólida do solo é o principal mecanismo que afeta a disponibilidade do P no solo estudado. Portanto, o cultivo de braquiária ruziziensis em rotação com soja resulta em menor disponibilidade de P devido à lenta dessorção/solubilização do P em resposta ao esgotamento de P na solução do solo.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D. S.; PENN, C. J.; ROSOLEM, C. A. Assessment of phosphorus availability in soil cultivated with ruzigrass. **Geoderma**, v. 312, p. 64-73, 2018a.

ALMEIDA, D. S. et al. Soil phosphorus bioavailability and soybean grain yield impaired by ruzigrass. **Agronomy Journal**, v. 110, n. 2, p. 1-10, 2018b.

ALMEIDA, D. S.; ROSOLEM, C. A. Ruzigrass grown in rotation with soybean increases soil labile phosphorus. **Agronomy Journal**, v. 108, n. 6, p. 1-9, 2016.

BARBER, S. A. **Soil nutrient bioavailability: A mechanistic approach**. New York: John Wiley & Sons, 1995. 384 p.

BARBER, S. A.; WALKER, J. M.; VASEY, E. H. Mechanisms for movement of plant nutrients from soil and fertilizer to plant root. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 11, n. 3, p. 204-207, 1963.

BODDEY, R. M.; RAO, I. M.; THOMAS, R. J. Nutrient cycling and environmental impact of Brachiaria pastures. In: MILES, J., et al (Ed.). **Brachiaria: Biology, Agronomy and Improvement**. Cali/Brasília: CIAT/EMBRAPA, 1996. p.72-86.

BRAUM, S. M.; HELMKE, P. A. White lupin utilizes soil phosphorus that is unavailable to soybean. **Plant and Soil**, v. 176, n. 1, p. 95-100, 1995.

GEORGE, T. S. et al. Organic phosphorus in the terrestrial environment: A perspective on the state of the art and future priorities. **Plant and Soil**, p. 1-18, 2017.

HARPER, M. P.; DAVISON, W.; TYCH, W. DIFS - A modelling and simulation tool for DGT induced trace metal remobilisation in sediments and soils. **Environmental Modelling & Software**, v. 15, n. 1, p. 55-66, 2000.

HARPER, M. P. et al. Kinetics of metal exchange between solids and solutions in sediments and soils interpreted from DGT measured fluxes. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 62, n. 16, p. 2757-2770, 1998.

HEIDARI, S.; REYHANITABAR, A.; OUSTAN, S. Kinetics of phosphorus desorption from calcareous soils using DGT technique. **Geoderma**, v. 305, n. Supplement C, p. 275-280, 2017.

HINSINGER, P. et al. Acquisition of phosphorus and other poorly mobile nutrients by roots. Where do plant nutrition models fail? **Plant and Soil**, v. 348, n. 1, p. 29, 2011.

HONEYMAN, B. D.; SANTSCHI, P. H. Metals in aquatic systems. **Environmental Science & Technology**, v. 22, n. 8, p. 862-871, 1988.

JANEGITZ, M. C.; SOUZA, E. A. D.; ROSOLEM, C. A. Brachiaria as a cover crop to improve phosphorus use efficiency in a no-till Oxisol. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, p. 1-9, 2016.

LEHTO, N. J. Principles and application in soils and sediments. In: DAVISON, W. (Ed.). **Diffusive Gradients in Thin-Films for Environmental Measurements**. Cambridge: Cambridge University Press, 2016. p.146-173.

LINDSAY, W. L. **Chemical equilibria in soils**. Chichester: John Wiley and Sons, 1979. 449 p.

MASON, S. et al. Prediction of wheat response to an application of phosphorus under field conditions using diffusive gradients in thin-films (DGT) and extraction methods. **Plant and Soil**, v. 337, n. 1, p. 243-258, 2010.

MCLAUGHLIN, M. J.; ALSTON, A. M.; MARTIN, J. K. Measurement of phosphorus in the soil microbial biomass: A modified procedure for field soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 18, n. 4, p. 437-443, 1986.

MENEZES-BLACKBURN, D. et al. Opportunities for mobilizing recalcitrant phosphorus from agricultural soils: A review. **Plant and Soil**, p. 1-18, 2017.

MENEZES-BLACKBURN, D. et al. Phytases and phytase–labile organic phosphorus in manures and soils. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 43, n. 9, p. 916-954, 2013.

MENEZES-BLACKBURN, D. et al. Organic acids regulation of chemical–microbial phosphorus transformations in soils. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 21, p. 11521-11531, 2016a.

MENEZES-BLACKBURN, D. et al. A holistic approach to understanding the desorption of phosphorus in soils. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 7, p. 3371-3381, 2016b.

MERLIN, A.; HE, Z. L.; ROSOLEM, C. A. Ruzigrass affecting soil-phosphorus availability. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 12, p. 1583-1588, 2013.

MERLIN, A.; ROSOLEM, C. A.; HE, Z. L. Non-labile phosphorus acquisition by *Brachiaria*. **Journal of Plant Nutrition**, v. 39, n. 9, p. 1319-1327, 2015.

NASCENTE, A. S.; CRUSCIOL, C. A. C.; COBUCCI, T. The no-tillage system and cover crops - Alternatives to increase upland rice yields. **European Journal of Agronomy**, v. 45, p. 124-131, 2013.

NZIGUHEBA, G. et al. Soil phosphorus fractions and adsorption as affected by organic and inorganic sources. **Plant and Soil**, v. 198, n. 2, p. 159-168, 1998.

PAVINATO, P. S.; MERLIN, A.; ROSOLEM, C. A. Phosphorus fractions in Brazilian Cerrado soils as affected by tillage. **Soil and Tillage Research**, v. 105, n. 1, p. 149-155, 2009.

RAGHOTHAMA, K. G.; KARTHIKEYAN, A. S. Phosphate acquisition. **Plant and Soil**, v. 274, n. 1, p. 37-49, 2005.

RAIJ, B. et al. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. 285 p.

RAIJ, B.; QUAGGIO, J. A.; DA SILVA, N. M. Extraction of phosphorus, potassium, calcium, and magnesium from soils by an ion-exchange resin procedure. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 17, n. 5, p. 547-566, 1986.

REDEL, Y. D. et al. Phosphorus bioavailability affected by tillage and crop rotation on a Chilean volcanic derived Ultisol. **Geoderma**, v. 139, n. 3-4, p. 388-396, 2007.

SANTNER, J. et al. Phosphorus uptake by *Zea mays* L. is quantitatively predicted by infinite sink extraction of soil P. **Plant and Soil**, v. 386, n. 1-2, p. 371-383, 2015.

SANTNER, J. et al. Ferrihydrite containing gel for chemical imaging of labile phosphate species in sediments and soils using diffusive gradients in thin films. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 18, p. 7668-7674, 2010.

SANTOS, H. G. et al. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 376 p.

SCHACHTMAN, D. P.; REID, R. J.; AYLING, S. M. Phosphorus uptake by plants: From soil to cell. **Plant Physiology**, v. 116, n. 2, p. 447-453, 1998.

SHARIATMADARI, H.; SHIRVANI, M.; JAFARI, A. Phosphorus release kinetics and availability in calcareous soils of selected arid and semiarid toposequences. **Geoderma**, v. 132, n. 3, p. 261-272, 2006.

SIX, L. et al. The performance of DGT versus conventional soil phosphorus tests in tropical soils - An isotope dilution study. **Plant and Soil**, v. 359, n. 1, p. 267-279, 2012.

SIX, L.; SMOLDERS, E.; MERCKX, R. The performance of DGT versus conventional soil phosphorus tests in tropical soils - Maize and rice responses to P application. **Plant and Soil**, v. 366, n. 1, p. 49-66, 2013.

SIX, L.; SMOLDERS, E.; MERCKX, R. Testing phosphorus availability for maize with DGT in weathered soils amended with organic materials. **Plant and Soil**, v. 376, n. 1, p. 177-192, 2014.

STUTTER, M. I. et al. Land use and soil factors affecting accumulation of phosphorus species in temperate soils. **Geoderma**, v. 257–258, p. 29-39, 2015.

TANDY, S. et al. The use of DGT for prediction of plant available copper, zinc and phosphorus in agricultural soils. **Plant and Soil**, v. 346, n. 1, p. 167-180, 2011.

VAN VELDHOVEN, P. P.; MANNAERTS, G. P. Inorganic and organic phosphate measurements in the nanomolar range. **Analytical Biochemistry**, v. 161, n. 1, p. 45-48, 1987.

ZHANG, H.; DAVISON, W. Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution. **Analytical Chemistry**, v. 67, n. 19, p. 3391-3400, 1995.

ZHANG, H. et al. In situ measurements of solution concentrations and fluxes of trace metals in soils using DGT. **Environmental Science & Technology**, v. 32, n. 5, p. 704-710, 1998.

ZHANG, H. et al. A new method to measure effective soil solution concentration predicts copper availability to plants. **Environmental Science & Technology**, v. 35, n. 12, p. 2602-2607, 2001.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de plantas de cobertura em sistema semeadura direta é sem dúvidas uma prática muito importante para a sustentabilidade dos sistemas de produção agrícola, reduzindo a erosão, controlando pragas, doenças e plantas daninhas, proporcionando maior qualidade física do solo, e contribuindo para maior proliferação e biodiversidade de microorganismos no solo. Contudo, o aumento da disponibilidade de fósforo, seja pela ciclagem de fósforo, aumento do teor de matéria orgânica do solo, interação com microorganismos, e/ou exsudação de ácidos orgânicos e enzimas fosfatases não é simples de se alcançar por meio do cultivo de plantas de cobertura, mesmo após longo-prazo. A contribuição da rotação com culturas de cobertura no aumento da disponibilidade de fósforo no solo parece ser apenas significativa quando grandes quantidades de resíduos com alto teor de fósforo são aplicadas no solo. Uma vez que o teor de fósforo na biomassa da braquiária ruziziensis é baixo, o processo de mineralização e consequente devolução do fósforo para o solo é lento e o aumento da disponibilidade de fósforo no solo irá depender da capacidade da braquiária em solubilizar e degradar formas de fósforo não disponíveis para as culturas em rotação. O cultivo de braquiária pode evitar o acúmulo de *mio*-inositol hexafosfato no solo, considerado uma das formas menos biodisponíveis de fósforo. Porém, a menor concentração de formas recalcitrantes de fósforo orgânico no solo cultivado com braquiária não parece ser o suficiente para promover uma maior disponibilidade de fósforo no solo. Sendo assim, o cultivo de braquiária ruziziensis durante a entressafra de soja não resulta em maior disponibilidade de fósforo para a soja, e nem para o milho, e sim em menor disponibilidade de P no solo, eventualmente resultando em menor produtividade de grãos das culturas subsequentes. A menor disponibilidade de fósforo no solo cultivado com braquiária se deve à menor difusão do fósforo no solo em direção às raízes, e principalmente à menor capacidade de reabastecimento de fósforo para a solução do solo pela fase sólida do solo. A imobilização do fósforo na biomassa da braquiária resulta em menor concentração de fósforo na solução do solo e do fósforo lábil de acordo com o método de gradiente de difusão em finas membranas, impedindo uma adequada reposição do fósforo para a solução do solo. Estes resultados foram observados após longo prazo e em vários anos seguidos, e são um indicativo de que não é possível obter aumento da disponibilidade de fósforo no solo com o cultivo de braquiária ruziziensis.

REFERÊNCIAS

ABDI, D. et al. Long-term impact of tillage practices and P fertilization on soil P forms as determined by 31P-NMR spectroscopy. **Journal of Environmental Quality**, v. 43, p. 1431-1441, 2014.

BEEGLE, D. Assessing soil phosphorus for crop production by soil testing. In: SIMS, J. T.; SHARPLEY, A. N. (Ed.). **Phosphorus: Agriculture and the Environment**. Madison: ASA-CSSA-SSSA, 2005. p.123-143.

BODDEY, R. M.; RAO, I. M.; THOMAS, R. J. Nutrient cycling and environmental impact of Brachiaria pastures. In: MILES, J., et al (Ed.). **Brachiaria: Biology, Agronomy and Improvement**. Cali/Brasília: CIAT/EMBRAPA, 1996. p.72-86.

BURKITT, L. L. et al. The ability of the DGT soil phosphorus test to predict pasture response in Australian pasture soils - a preliminary assessment. **Soil Use and Management**, v. 32, n. 1, p. 27-35, 2016.

CALEGARI, A. et al. Long-term effect of different soil management systems and winter crops on soil acidity and vertical distribution of nutrients in a Brazilian Oxisol. **Soil and Tillage Research**, v. 133, n. Supplement C, p. 32-39, 2013.

CROSS, A. F.; SCHLESINGER, W. H. A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. **Geoderma**, v. 64, n. 3, p. 197-214, 1995.

DAMON, P. M. et al. Crop residue contributions to phosphorus pools in agricultural soils: A review. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 74, n. Supplement C, p. 127-137, 2014.

DEGRYSE, F. et al. Predicting availability of mineral elements to plants with the DGT technique: a review of experimental data and interpretation by modelling. **Environmental Chemistry**, v. 6, n. 3, p. 198-218, 2009.

DODD, R. J.; SHARPLEY, A. N. Recognizing the role of soil organic phosphorus in soil fertility and water quality. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 105, p. 282-293, 2015.

EVANS, R. L.; JURINAK, J. J. Kinetics of phosphate release from a desert soil. **Soil Science**, v. 121, n. 4, p. 205-211, 1976.

FUENTES, B. et al. Assessment of phosphorus bioavailability from organic wastes in soil. In: HARTEMINK, A. E., et al (Ed.). **Developments in Soil Science**: Elsevier, v.32, 2008. cap. 16, p.363-411.

GODFRAY, H. C. J. et al. Food security: The challenge of feeding 9 billion people. **Science**, v. 327, n. 5967, p. 812-818, 2010.

GUO, F.; YOST, R. S. Partitioning soil phosphorus into three discrete pools of differing availability. **Soil Science**, v. 163, n. 10, p. 822-833, 1998.

HEIDARI, S.; REYHANITABAR, A.; OUSTAN, S. Kinetics of phosphorus desorption from calcareous soils using DGT technique. **Geoderma**, v. 305, n. Supplement C, p. 275-280, 2017.

HINSINGER, P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: A review. **Plant and soil**, v. 237, n. 2, p. 173-195, 2001.

HORST, W. J. et al. Agronomic measures for increasing P availability to crops. **Plant and Soil**, v. 237, n. 2, p. 211-223, 2001.

JUO, A. S.; FRANZLUEBBERS, K. **Tropical soils: Properties and management for sustainable agriculture**. New York: Oxford University Press, 2003. 281 p.

MACDONALD, G. K. et al. Agronomic phosphorus imbalances across the world's croplands. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 7, p. 3086-3091, 2011.

MACHADO, P. L. O. A.; SILVA, C. A. Soil management under no-tillage systems in the tropics with special reference to Brazil. In: MARTIUS, C., et al (Ed.). **Managing Organic Matter in Tropical Soils: Scope and Limitations**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2001. p.119-130.

MARSCHNER, P.; RENGEL, Z. Nutrient availability in soils. In: (Ed.). **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. San Diego: Academic Press, 2012. cap. 12, p.315-330.

MARTIN, M.; CELI, L.; BARBERIS, E. Desorption and plant availability of *myo*-inositol hexaphosphate adsorbed on goethite. **Soil Science**, v. 169, n. 2, p. 115-124, 2004.

MASON, S. et al. Investigating chemical constraints to the measurement of phosphorus in soils using diffusive gradients in thin films (DGT) and resin methods. **Talanta**, v. 74, n. 4, p. 779-787, 2008.

MASON, S. et al. Prediction of wheat response to an application of phosphorus under field conditions using diffusive gradients in thin-films (DGT) and extraction methods. **Plant and Soil**, v. 337, n. 1, p. 243-258, 2010.

MASON, S. D. et al. Soil test measures of available P (Colwell, resin and DGT) compared with plant P uptake using isotope dilution. **Plant and Soil**, v. 373, n. 1, p. 711-722, 2013.

MENEZES-BLACKBURN, D. et al. A holistic approach to understanding the desorption of phosphorus in soils. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 7, p. 3371-3381, 2016.

MERLIN, A.; HE, Z. L.; ROSOLEM, C. A. Ruzigrass affecting soil-phosphorus availability. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 12, p. 1583-1588, 2013.

MERLIN, A.; HE, Z. L.; ROSOLEM, C. A. Congo grass grown in rotation with soybean affects phosphorus bound to soil carbon. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 888-895, 2014.

MERLIN, A.; ROSOLEM, C. A.; HE, Z. L. Non-labile phosphorus acquisition by *Brachiaria*. **Journal of Plant Nutrition**, v. 39, n. 9, p. 1319-1327, 2015.

MIYASAKA, S. C.; HABTE, M. Plant mechanisms and mycorrhizal symbioses to increase phosphorus uptake efficiency. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 32, n. 7-8, p. 1101-1147, 2001.

OKAJIMA, H.; KUBOTA, H.; SAKUMA, T. Hysteresis in the phosphorus sorption and desorption processes of soils. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 29, n. 3, p. 271-283, 1983.

PENN, C. J.; WARREN, J. G. Investigating phosphorus sorption onto kaolinite using isothermal titration calorimetry. **Soil Science Society of America Journal**, v. 73, n. 2, p. 560, 2009.

PENN, C. J.; ZHANG, H. Isothermal titration calorimetry as an indicator of phosphorus sorption behavior. **Soil Science Society of America Journal**, v. 74, n. 2, p. 502, 2010.

RAIJ, B. Bioavailable tests: Alternatives to standard soil extractions. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 29, n. 11-14, p. 1553-1570, 1998.

RAIJ, B. et al. Ion exchange resin for assessing phosphorus availability in soils. **Better Crops**, v. 93, p. 1-3, 2009.

RAIJ, B.; QUAGGIO, J. A.; DA SILVA, N. M. Extraction of phosphorus, potassium, calcium, and magnesium from soils by an ion-exchange resin procedure. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 17, n. 5, p. 547-566, 1986.

RAVEN, K. P.; HOSSNER, L. R. Soil phosphorus desorption kinetics and its relationship with plant growth. **Soil Science Society of America Journal**, v. 58, n. 2, p. 416-423, 1994.

RICHTER, D. D.; BABBAR, L. I. Soil diversity in the tropics. In: BEGON, M., et al (Ed.). **Advances in Ecological Research**: Academic Press, v.21, 1991. p.315-389.

SHANG, C. et al. Bioavailability of organic and inorganic phosphates adsorbed on short-range ordered aluminum precipitate. **Microbial Ecology**, v. 31, n. 1, p. 29-39, 1996.

SHARPLEY, A. N. Soil phosphorus dynamics: Agronomic and environmental impacts. **Ecological Engineering**, v. 5, n. 2, p. 261-279, 1995.

SIX, L.; SMOLDERS, E.; MERCKX, R. The performance of DGT versus conventional soil phosphorus tests in tropical soils - Maize and rice responses to P application. **Plant and Soil**, v. 366, n. 1, p. 49-66, 2013.

TANDY, S. et al. The use of DGT for prediction of plant available copper, zinc and phosphorus in agricultural soils. **Plant and Soil**, v. 346, n. 1, p. 167-180, 2011.

TELES, A. P. B. et al. Do cover crops change the lability of phosphorus in a clayey subtropical soil under different phosphate fertilizers? **Soil Use and Management**, v. 33, n. 1, p. 34-44, 2017.

ZHANG, H. et al. In situ measurements of solution concentrations and fluxes of trace metals in soils using DGT. **Environmental Science & Technology**, v. 32, n. 5, p. 704-710, 1998.