

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS JABOTICABAL**

**PREVISÃO DA MINERALIZAÇÃO DE NITROGÊNIO
POR MÉTODOS DE INCUBAÇÃO DE SOLO NO
LABORATÓRIO E NO CAMPO**

Alúcio Hideki Togoro
Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS JABOTICABAL**

**PREVISÃO DA MINERALIZAÇÃO DE NITROGÊNIO
POR MÉTODOS DE INCUBAÇÃO DE SOLO NO
LABORATÓRIO E NO CAMPO**

Aluísio Hideki Togoro

Orientadora: Profa. Dra. Mara Cristina Pessoa da Cruz

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

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Novembro de 2016

T645p Togoro, Alúcio Hideki
Previsão da mineralização de nitrogênio por métodos de
incubação de solo no laboratório e no campo / Alúcio Hideki Togoro.
-- Jaboticabal, 2016
xii, 68 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016

Orientadora: Mara Cristina Pessôa da Cruz

Banca examinadora: Manoel Evaristo Ferreira, Jairo Osvaldo
Cazetta, Estevão Vicari Mellis, José Ricardo Mantovani

Bibliografia

1. N potencialmente mineralizável . 2. Matéria orgânica. 3. Adubo
orgânico. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias.

CDU 631.86:633.15

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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: PREVISÃO DA MINERALIZAÇÃO DE NITROGÊNIO POR MÉTODOS DE
INCUBAÇÃO DE SOLO NO LABORATÓRIO E NO CAMPO

AUTOR: ALUISIO HIDEKI TOGORO

ORIENTADORA: MARA CRISTINA PESSOA DA CRUZ


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



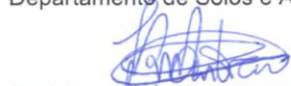
Profa. Dra. MARA CRISTINA PESSOA DA CRUZ
Departamento de Solos e Adubos / FCAV / UNESP - Jaboticabal



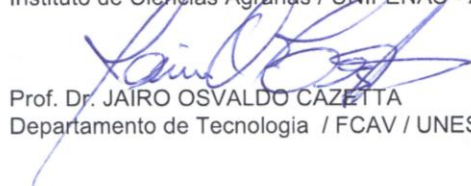
Pesquisador ESTÊVÃO VICARI MELLIS
Centro de Solos e Recursos Agroambientais, Fertilidade do Solo / Instituto Agronômico de Campinas, SP



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



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



Prof. Dr. JAÍRO OSVALDO CAZETTA
Departamento de Tecnologia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 03 de novembro de 2016.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ALUÍSIO HIDEKI TOGORO – Nasceu em 01 de julho de 1985, na cidade de Taubaté – SP. Concluiu o curso de graduação em Engenharia Agrônômica pela Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS), na cidade de Alfenas – MG, em dezembro de 2009, onde, além das atividades curriculares, desenvolveu trabalhos como bolsista de iniciação científica (PIBIC) pelo CNPq no Laboratório de Biotecnologia. Em 2012 obteve título de Mestre em Agronomia (Ciência do Solo) pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP) de Jaboticabal – SP. Em março de 2013 iniciou curso de doutorado em Agronomia (Ciência do Solo) na mesma instituição. Durante o mestrado foi bolsista da FAPESP (março/2010 a março/2012) e no doutorado foi bolsista CAPES de março de 2010 a maio de 2010 e de fevereiro de 2014 a dezembro de 2015. No período de maio de 2014 a janeiro de 2015 foi bolsista do programa de doutorado sanduíche pela CAPES e realizou estágio na University of Florida.

A Deus

Aos meus pais Tatsuo e Terezinha Togoro, e irmão, Eduardo, pelo incentivo, sobretudo nas incertezas, pois sei que não mediram esforços para minha formação.

À minha namorada Juliana, pelo incentivo, compreensão, apoio integral e confiança em minha jornada.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À professora Mara Cristina Pessôa da Cruz, Orientadora

Professores Manoel Evaristo Ferreira, José Ricardo Mantovani e Jairo Osvaldo Cazetta, Conselheiros

Pesquisador Estêvão Vicari Mellis, Conselheiros

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV/UNESP) pela oportunidade da pesquisa, formação acadêmica e aperfeiçoamento profissional e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro (processo FAPESP n. 2013/20321-6).

Aos colegas pós-graduando pela amizade e companheirismo

Aos amigos do Laboratório de Fertilidade do Solo

“A todos aqueles que contribuíram de alguma maneira para o desenvolvimento e realização deste trabalho”

MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Conteúdo, transformações e disponibilidade de N no solo	3
2.2 Métodos de incubação para estimativa da disponibilidade de N	5
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1 Local do experimento no campo, características do clima, do solo e do esterco bovino	10
3.2. Experimento no campo	12
3.2.1. Delineamento experimental e tratamentos	12
3.2.2. Instalação, condução e avaliações do experimento	14
3.3 Determinação da taxa de mineralização de N do esterco bovino	16
3.3.1 Método de incubação em laboratório	16
3.3.2 Métodos de incubação em campo	18
3.4 Tratamento estatístico dos dados	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1 Mineralização do N orgânico do esterco bovino em laboratório	23

4.2. Nitrogênio mineralizado acumulado determinado por métodos de incubação do solo no laboratório e no campo	25
4.3. Comportamento dos métodos de incubação e relação com o crescimento e absorção de N pelo milho	40
5 CONCLUSÕES	45
6 REFERÊNCIAS	46

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1. Valores médios de temperatura mínima, máxima e média, e precipitação pluvial acumulada durante os meses de condução do experimento no campo (novembro a abril de cada ano).....	11
2. Características do esterco bovino aplicado ao solo nos anos agrícolas 2011/2012 e 2013/2014.....	12
3. Nitrogênio mineralizado acumulado (N_{mac}) determinado em amostras de solo submetidas à incubação em laboratório e em campo (métodos dos sacos de polietileno enterrados e dos tubos com resina) e parâmetros da equação exponencial de cinética de primeira ordem ajustada aos dados de laboratório (estimativa de N potencialmente mineralizável, N_0 , e constante de mineralização, k).....	31
4. Ajuste dos dados de nitrogênio mineralizado acumulado (N_{mac}) em amostras de solo submetidas à incubação aeróbica em laboratório, equações de regressão para efeito das doses de esterco bovino (x em $kg\ ha^{-1}$) nos valores de N_{mac}	35
5. Marcha de absorção de nitrogênio (N_{abs}) pela parte aérea de plantas de milho em função de doses de esterco bovino, em quatro anos de avaliação.....	40
6. Produtividade, matéria seca (MSPA) e N acumulado (N_{abs}) na parte aérea de plantas de milho.....	41
7. Coeficientes de correlação (r) entre nitrogênio mineralizado obtido através dos métodos de incubação em laboratório, em sacos de polietileno enterrados e em tubos com resina trocadoras de íons, matéria seca da parte aérea (MSPA), N absorvido (N_{abs}) na MSPA	

de plantas de milho no tratamento sem aplicação de esterco.....	42
8. Coeficientes de correlação (r) entre nitrogênio mineralizado obtido através dos métodos de incubação em laboratório, sacos de polietileno enterrados e tubos com resina trocadoras de íons, matéria seca da parte aérea (MSPA), N acumulado (N_{abs}) na MSPA de plantas de milho nos tratamentos que receberam aplicação de esterco.....	43
9. Coeficientes de correlação (r) entre nitrogênio mineralizado obtido através dos métodos de incubação em laboratório, sacos de polietileno enterrados e tubos com resina trocadoras de íons, matéria seca da parte aérea (MSPA), N acumulado (N_{abs}) na MSPA de plantas de milho aos 120 dias e produtividade.....	44

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Dados meteorológicos dos anos de 2011 a 2015: (A) média mensal da temperatura máxima e mínima; (B) precipitação acumulada mensal.....	11
2. Disposição dos blocos e tratamentos na área experimental	13
3. Esquema da parcela, com definição do procedimento de amostragem de plantas e de avaliação de produção. . . . amostragem das plantas; ----- avaliação da produção.....	14
4. Vista do experimento em campo no dia da aplicação do esterco e da semeadura do milho. A) Distribuição do esterco bovino dentro da parcela antes da incorporação. B) Vista dos blocos em campo.	14
5. Tubo de PVC utilizado no método de incubação em campo (A) e disposição dos tubos de PVC na parcela experimental (B).....	18
6. Amostra do esterco que foi misturado ao solo do saco de polietileno com fecho hermético para incubação no campo.....	20
7. Quantidades de N mineralizadas (N_m) em amostras de solo coletadas em 2011, 2012, 2013 e 2014 (anos 1, 2, 3 e 4, respectivamente) nos tratamentos com e sem aplicação de esterco, com o método de incubação aeróbica em laboratório. A aplicação do esterco foi feita nos anos 2011 e 2013 e as doses de esterco (E) foram 0, 10, 20, 30 e 40 t ha ⁻¹	24
8. Nitrogênio mineralizado acumulado (N_{mac}) avaliado pelos métodos de incubação em laboratório, tubos com resinas trocadoras de íons e sacos de polietileno enterrados, no tratamento sem aplicação de esterco (E0).....	26

9. Nitrogênio mineralizado acumulado (N_{mac}) avaliado pelos métodos de incubação em laboratório, tubos com resinas trocadoras de íons e sacos de polietileno enterrados, no tratamento com aplicação de 10 t ha^{-1} de esterco bovino (E10).....	27
10. Nitrogênio mineralizado acumulado (N_{mac}) avaliado pelos métodos de incubação em laboratório, tubos com resinas trocadoras de íons e sacos de polietileno enterrados, no tratamento com aplicação de 20 t ha^{-1} de esterco bovino (E20).....	28
11. Nitrogênio mineralizado acumulado (N_{mac}) avaliado pelo método de incubação em laboratório, tubos com resinas trocadoras de íons e sacos de polietileno enterrados, no tratamento com aplicação de 30 t ha^{-1} de esterco bovino (E30).....	29
12. Nitrogênio mineralizado acumulado (N_{mac}) avaliado pelos métodos de incubação em laboratório, tubos com resinas trocadoras de íons e sacos de polietileno enterrados, no tratamento com aplicação de 40 t ha^{-1} de esterco bovino (E40).....	30
13. Relação entre N estimado e N observado. A: Tratamento controle (E0) no ano de 2011/2012; B: Tratamento controle (E0) no ano 2012/2013; C, D, E e F: Aplicação de 10, 20, 30 e 40 t ha^{-1} de esterco, respectivamente no ano de 2012/2013. MAPE = erro percentual absoluto médio; R^2 = coeficiente de terminação; Es = erro sistemático.....	33
14. Relação entre N estimado e N observado. A: Tratamento controle (E0) no ano de 2013/2014; B: Tratamento controle (E0) no ano 2014/2015; C, D, E e F: Residual de 10, 20, 30 e 40 t ha^{-1} de esterco, respectivamente, no ano de 2014/2015. MAPE = erro percentual absoluto médio; R^2 = coeficiente de terminação; Es = erro sistemático.....	34

PREVISÃO DA MINERALIZAÇÃO DE NITROGÊNIO POR MÉTODOS DE INCUBAÇÃO DE SOLO NO LABORATÓRIO E NO CAMPO

RESUMO – Neste trabalho foi feita avaliação da eficiência de métodos de laboratório e de campo na previsão da taxa de mineralização de N do solo e do solo tratado com resíduo orgânico. O método de laboratório avaliado foi o de incubação de solo em colunas, com lixiviação e, no campo, foram avaliados os métodos dos sacos enterrados e dos tubos abertos com resina. No ensaio em laboratório foram utilizadas amostras de solo da área onde foram enterrados os sacos e onde foram colocados os tubos. Nesta área, o solo é Latossolo Vermelho Distrófico de textura média, e nela foi conduzido experimento com milho, em delineamento em blocos ao acaso, com doses de esterco bovino equivalentes a 0, 10, 20, 30 e 40 t ha⁻¹, e quatro repetições. As avaliações foram feitas durante quatro safras 2011/2012 a 2014/2015, com aplicação do esterco nas safras 2011/2012 e 2013/2014. O N mineralizado acumulado (N_{mac}) determinado em laboratório explicou 77% do N absorvido por plantas de milho não adubadas com esterco bovino e 62% do N absorvido por plantas adubadas, sendo considerado o melhor índice de disponibilidade de N entre os métodos avaliados. O N_{mac} determinado pelos métodos de campo não explicou a produção de matéria seca da parte aérea e o N absorvido pelas plantas de milho, sendo ineficientes para predizer a disponibilidade de N.

Palavras-chave: N potencialmente mineralizável, matéria orgânica, adubo orgânico.

PREDICTION OF NITROGEN MINERALIZATION BY LABORATORY AND *in situ* INCUBATION METHODS

ABSTRACT - Nitrogen mineralization was studied in laboratory and in field to evaluate the efficiency of incubation methods as tools to evaluate available N from soil with and without cattle manure application. The laboratory method was the soil incubation in leaching columns and in the field were evaluated methods of buried bags and open tubes with resin. In the laboratory method was used soil samples collected in the area where the bags were buried and the tubes were placed. The soil is a sandy clay loam Oxisol and the experiment was carried out in randomized blocks design with doses of cattle manure equivalent to 0, 10, 20, 30 and 40 t ha⁻¹, with four replications, and maize as test plant. Evaluations were made in four seasons, 2011/2012 to 2014/2015, with application of manure in the years 2011/2012 and 2013/2014. The mineralized N determined in the laboratory explained 77% of the N uptake by corn plants not fertilized with cattle manure and 62% of the N uptake by fertilized plants, being considered the best index of N availability among the evaluated methods. The mineralized N determined with the field methods did not explain the shoot dry matter production and N uptake by maize, being account inefficient to predict of N availability.

Keywords: N potentially mineralizable, organic matter, organic fertilizer.

1 INTRODUÇÃO

As transformações microbianas do nitrogênio (N) no solo incluem: a) mineralização, que é a transformação de formas de N-orgânico em N-mineral (NH_4^+ + NO_3^-); b) imobilização, que ocorre simultaneamente a mineralização, porém no sentido inverso, e é resultante da assimilação de N-mineral por microrganismos que incorporam o N-mineral às suas células; c) nitrificação, que acontece em sequência ao processo de mineralização, na qual tem-se a conversão de amônio (NH_4^+) em nitrito (NO_2^-) e de NO_2^- em nitrato (NO_3^-); d) desnitrificação, que é um processo típico de ambientes anaeróbicos pelo qual bactérias heterotróficas reduzem o NO_3^- em óxido nitroso (N_2O) e nitrogênio elementar (N_2); e e) fixação biológica de N_2 , na qual N_2 é convertido em NH_3 e posteriormente em N-orgânico.

A mineralização resulta em aumento, enquanto a imobilização em diminuição da disponibilidade de N-mineral do solo para as plantas. Ambos os processos ocorrem ao mesmo tempo e o balanço entre eles é a taxa de mineralização. Deste modo, as reações envolvidas na disponibilização de N são predominantemente mediadas por microrganismos e, portanto, afetadas por condições do clima e do solo. Condições ótimas para a mineralização do N orgânico do solo são aquelas que favorecem a atividade microbiana, embora os processos ocorram mesmo em situações extremas de temperatura e umidade devido à diversidade de organismos envolvidos. A questão é que, ao se tornar disponível para as plantas, o N fica também mais suscetível a ser perdido por lixiviação e volatilização. Assim, estimar a taxa de mineralização de N e a quantidade de N que uma cultura terá à sua disposição durante seu período de crescimento é uma tarefa difícil, que mobiliza pesquisadores de todo mundo, há muito tempo, sem que haja uma forma amplamente reconhecida como eficiente para medir N disponível.

Apesar das dificuldades, a medida do N mineralizado a partir da fração orgânica do N do solo é de grande interesse agrônômico porque para a maioria das culturas a escassez deste nutriente é o fator nutricional mais limitante que afeta a produtividade. Empregando métodos de incubação de amostras de solo em laboratório, em condições controladas de temperatura, umidade e disponibilidade de

nutrientes, é possível fazer esta estimativa. O método de laboratório é o mais empregado e o recomendado, no Brasil, para estabelecimento de taxas de aplicação de lodos de esgoto e produtos derivados em solos agrícolas (CETESB, 1999; CONAMA, 2006). No entanto, tendo em vista a complexidade das transformações que o N sofre no solo e para evitar os efeitos do manuseio do solo e de variações artificiais de temperatura e umidade, a medida da mineralização em campo, do ponto de vista teórico, é mais interessante. Nas avaliações no campo os métodos mais usados são o dos sacos de polietileno enterrados, o dos tubos cobertos e o dos tubos abertos contendo resina trocadora de íons.

Diante dos aspectos citados, admite-se que os métodos de avaliação da mineralização de N em campo, por levarem em conta os efeitos de fatores ambientais que interferem na taxa de mineralização, são mais eficientes do que os métodos de laboratório, mas existem poucos trabalhos com comparação dos métodos. Por isso, o objetivo com o presente trabalho foi avaliar a eficiência de métodos de laboratório e de campo na previsão da taxa de mineralização de N.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Conteúdo, transformações e disponibilidade de N no solo

Dentre os nutrientes de plantas, o N é o exigido em maior quantidade por grande parte das culturas. Para milho, por exemplo, o acúmulo de N, P, K e S na parte aérea é de, respectivamente, 28, 5, 18 e 2,6 kg t⁻¹ de grãos (CANTARELLA; RAIJ, 1996), o que define a proporção aproximada de 11:2:7:1.

O solo é o fornecedor natural de N para as plantas. Nele, nos primeiros 30 cm de profundidade, a reserva estimada (média de várias regiões do mundo) é equivalente a 6.716 kg ha⁻¹ de N, sendo 4.600 kg ha⁻¹ a quantidade média dos Oxisolos (BATJES, 2014). Deste total, menos de 5% estão nas formas de amônio (NH₄⁺) e nitrato (NO₃⁻), que são disponíveis para as plantas (HOFMAN; CLEEMPUT, 2004; ADDISCOTT, 2005). O restante, cerca de 95%, está na forma orgânica. Estima-se também que cerca de 1 a 4% do N contido na matéria orgânica do solo (MOS) é mineralizado anualmente e, portanto, disponibilizado para as plantas (TISDALE et al., 1985).

A mineralização é a transformação microbiana de N orgânico em mineral. Nesta transformação, algumas frações mais instáveis ou lábeis da MOS são convertidas em N inorgânico, em taxas variáveis, enquanto outras podem ser acumuladas devido à resistência à decomposição microbiana. Trata-se de um processo complexo e de previsibilidade baixa, devido à influência dos fatores climáticos (HAVLIN et al., 2005), da natureza da MOS, das características dos resíduos orgânicos existentes ou aplicados na área, das propriedades químicas e físicas do solo (CORDOVIL et al., 2005) e de sua microbiota (CANTARELLA, 2007). As formas minerais resultantes, NH₄⁺ e NO₃⁻, além de serem absorvidas pelas plantas, estão sujeitas a vários processos de perda tanto para as águas de drenagem como para a atmosfera.

Considerando o predomínio das formas orgânicas, a dependência de fatores climáticos e do solo para a conversão das formas orgânicas em formas disponíveis e o alto potencial de perda de várias formas de N, a estimativa da disponibilização de

N para as culturas e a determinação da necessidade de adubação nitrogenada têm sido desafios para pesquisadores e agricultores.

Um dos principais fatores que afeta a eficiência do uso do N é a quantidade aplicada no solo. Em diversos estudos foi demonstrado que as perdas de N aumentam muito quando as adições excedem a capacidade de assimilação das plantas (BROADBENT; CARLTON, 1978; LEGG; MEISINGER, 1982; DOBERMAN et al., 2006). A utilização de grandes quantidades de adubos nitrogenados desencadeia impactos indesejáveis nos recursos naturais como água, solo e atmosfera. Por isso, o aumento do uso de N no sistema de produção potencializa as suas perdas no ambiente principalmente na forma de amônia (NH_3), óxido nitroso (N_2O) e nitrato (GALLOWAY et al., 2003). Nos EUA, a agricultura é responsável por 73% e 84% das emissões de N_2O e de NH_3 , respectivamente (US Environmental Protection Agency-EPA, 2010).

Os critérios de recomendação de adubação nitrogenada no Brasil variam de acordo com o Estado, assim como com o tipo de cultura. Em geral, os critérios são baseados na expectativa de produtividade, no histórico da área, na análise do N inorgânico ou no teor de MOS (RAIJ et al., 1996; CANTARELLA, 2007). Contudo, a recomendação de adubação nitrogenada ainda apresenta muitas limitações devido às variações na demanda de N pelas culturas, na capacidade de fornecimento de N de cada solo, e nas diferenças existentes no perfil dos solos (ZEBARTH et al., 2009). Embora ainda não existam métodos de análise de N orgânico mineralizável que dêem o embasamento necessário para a recomendação de adubação, existem ensaios de incubação de solo que permitem estimar a taxa de mineralização de N em diferentes condições de manejo. A maior parte deles é de execução difícil, demorada e de custo elevado, mas por serem métodos de referência, seu emprego é necessário na fase inicial do estabelecimento de programas de recomendação de adubação apoiados em análise de solo. Em áreas de aplicação de resíduos orgânicos há também muito interesse no uso dos métodos de determinação da taxa de mineralização de N para estimar a mineralização do N do resíduo (HONEYCUTT; GRIFFIN; WIENHOLD, 2005; CONAMA, 2006).

2.2 Métodos de incubação para estimativa da disponibilidade de N

Os métodos de incubação de amostras de solo para estimar o N orgânico mineralizável podem ser de execução em laboratório ou no campo. No laboratório empregam-se condições controladas de temperatura, umidade e disponibilidade de nutrientes. Com este método o potencial de mineralização líquida do N orgânico é estimado por meio de ajuste a modelos matemáticos, entre os quais o mais utilizado é o exponencial de crescimento, ou modelo exponencial simples, que foi proposto por Stanford e Smith (1972). Neste modelo, a taxa de mineralização do N orgânico é admitida como proporcional ao substrato mineralizável, e é expressa pela equação: $N_{mac} = N_0(1 - e^{-kt})$, em que N_{mac} = N mineralizado acumulado; N_0 = N potencialmente mineralizável; k = constante da taxa de mineralização e t = tempo.

Desde que o método de incubação em laboratório foi proposto (STANFORD; SMITH, 1972), muitas alterações já foram testadas com e sem lixiviação (WIENHOLD; HALVORSON, 1999) e com variação nas condições de umidade e temperatura (GUNTIÑAS et al., 2012). A lixiviação é considerada uma desvantagem do método porque pode ocorrer remoção de N orgânico solúvel, subestimando assim o N mineralizável (PARKER; SOMMERS, 1983). Entretanto, Wang, Smith e Chen (2003), ao compararem experimentos de incubação aeróbica com e sem lixiviação, observaram que o método com lixiviação pode superestimar o N mineralizado, pois a remoção de substâncias orgânicas contendo N pode diminuir o potencial de imobilização do N devido à remoção de C do sistema. Gutiñas et al. (2011) observaram que a umidade do solo tem menos efeito do que a temperatura nos processos de mineralização, e que, para os solos da Espanha, a capacidade de retenção de água entre 80 e 100% e a temperatura de 25°C resultaram em maior mineralização do N.

Embora os métodos biológicos de incubação sejam bem aceitos, sua capacidade de indicar a disponibilidade de N depende da habilidade de prever o valor do N_0 da equação (GRIFFIN, 2008; SCHOMBERG et al., 2009). Resultados obtidos em ensaios de incubação em laboratório podem levar à estimativa de N mineralizável diferente daquela obtida *in situ* (HART; FIRESTONE, 1988; SUBLER; PARMELEE; ALLEN, 1995; HATCH et al., 2000). Como a taxa de mineralização é

afetada pelas condições climáticas do local, pelas características físicas e químicas do solo, e também pelo manejo, os métodos *in situ* deveriam resultar em estimativas mais reais e confiáveis do processo (BINKLEY; HART, 1989). A ausência da planta na condição de laboratório é outra limitação deste método, uma vez que a presença de raízes altera a diversidade microbiana e estimula a mineralização do N (PARKIN; KASPAR; CAMBARDELLA, 2002).

De modo geral, as quantidades de N mineralizável estimadas em laboratório são maiores do que obtidas com métodos de campo, uma vez que, no laboratório, o solo é mantido em condições de umidade e temperatura adequadas durante todo o período de avaliação. Como exemplo, Weinhold (2007) determinou 466 kg ha⁻¹ e 139,2 kg ha⁻¹ de N mineralizado, respectivamente em laboratório e *in situ*, considerando igual período de tempo.

Apesar das várias limitações, a incubação em laboratório em meio aeróbio, com lixiviação, ainda é o método mais utilizado (EGHBALL, 2000; YAGI et al., 2009; GUTIÑS, 2012; MARIANO et al., 2013; LI;LI, 2014; THOMAS, 2015).

Entre os métodos de avaliação da mineralização de N *in situ*, os mais comuns são o dos sacos enterrados, o dos cilindros cobertos e o dos cilindros abertos contendo resina trocadora de íons (ENO, 1960; ADAMS; ATTIWILL, 1986; KOLBERG et al., 1997). Em todos os casos admite-se que as condições microambientais no interior dos recipientes são similares àquelas existentes no solo circundante. Khanna e Raison (2012) citam que os métodos de mineralização *in situ*, devido aos custos elevados, são mais usados como ferramentas de pesquisa, do que como métodos de rotina. Entretanto, o emprego destes métodos permite: (i) avançar na compreensão do ciclo do N e de como ele se relaciona com o funcionamento de ecossistemas naturais e cultivados; (ii) calibrar e testar índices mais simples de determinação de taxas de ciclagem de N; e (iii) desenvolver modelos para estimar a dinâmica do N no solo.

No método dos sacos enterrados (ENO, 1960) o solo é incubado dentro de sacos de polietileno com fecho hermético, que são enterrados a profundidade desejada, no campo. Este método, apesar de sensível às flutuações de temperatura, não leva em consideração a variação de umidade, exclui o processo de lixiviação (ISAAC; TIMER, 2007) e os sacos podem sofrer danos físicos, com consequente

perda de N mineralizado por difusão e/ou fluxo de massa (SYLVESTRE, 2013). Embora o polietileno permita trocas gasosas, a mineralização do N é um processo biológico que pode ser afetado pela diminuição do oxigênio decorrente do próprio processo (ABRIL; CAUCAS; BUCHER, 2001). Abril, Caucas e Bucher (2001), ao incubarem amostras indeformadas de solo envolvidas em sacos de polietileno, observaram diminuição de 44% e 33%, respectivamente, nos processos de nitrificação e respiração do solo, comparados com amostras do solo circundante. Além disso, com os sacos enterrados, assim como ocorre com o método de incubação em laboratório, tem-se o inconveniente de utilizar amostras deformadas, o que pode alterar ainda mais as taxas de mineralização. Desse modo, o método dos sacos apresenta apenas a vantagem de ser sensível às variações de temperatura do local (BINKLEY; HART, 1989). Recentemente, foi testada a substituição dos sacos por embalagens de polietileno em forma de tubos, com 10 µm de espessura e 5 cm de diâmetro, para avaliação da mineralização de N de esterco bovino, com bons resultados (LENTZ et al., 2011).

No método dos tubos cobertos (ADAMS; ATTIWILL, 1986) utilizam-se tubos de PVC ou metal, fechados na parte superior para evitar a entrada da água das chuvas e perdas de N por lixiviação, mas abertos na parte inferior, o que permite o movimento ascendente da água (ISAAC; TIMER, 2007) e de N-mineral. A lateral dos tubos é perfurada para promover a aeração do solo, o que possibilita a perda de N mineralizado tanto pelas laterais quanto pelo fundo do tubo, por difusão e/ou fluxo de massa (SUBLER; PARMELEE; ALLEN, 1995), e ainda pode haver perdas por absorção devido à entrada de raízes pelas aberturas laterais.

O método da resina consiste na incubação de amostras indeformadas de solo, em tubos de PVC ou metal, abertos na parte superior e inferior, o que permite movimento livre de água e gases no interior do cilindro (MOBERG; JOHNSON; SULLIVAN, 2013). Na base do cilindro é colocado um saco contendo mistura de resinas trocadoras de cátions e de ânions que retêm N-NH_4^+ e N-NO_3^- produzidos no processo de mineralização do solo do tubo e que são lixiviados pelas águas das chuvas. A principal vantagem deste método, frente a outros de incubação em campo, é que às variações de temperatura, umidade e aeração ocorrem, dentro dos tubos, de modo semelhante ao que acontece no solo circundante (HANSELMAN;

GRAETZ; OBREZA, 2004; WIENHOLD; VARVEL; WILHELM, 2009). Esta técnica vem sendo utilizada na avaliação da mineralização de N em solos tratados com esterco (EGHBALL, 2000) e o Serviço de Pesquisa Agrícola do Departamento de Agricultura dos EUA (USDA-ARS) elaborou um protocolo (HONEYCUTT; GRIFFIN; WIENHOLD, 2005) para a padronização das pesquisas em áreas de aplicação de adubos orgânicos, no qual o uso do método dos tubos com resina é recomendado.

De acordo com Subler, Parmelee e Allen (1995), a comparação entre o método dos sacos enterrados e tubos cobertos não forneceu boa correlação para nitrificação ($r=0,58$) e mineralização ($r=0,24$), resultando em informações inconsistentes sobre o processo de mineralização. Hanselman, Graetz e Obreza (2004) quantificaram o N mineralizado do solo 45 dias após a incorporação de esterco de galinha, e obtiveram 46 e 68% de N mineralizado usando incubação em laboratório e sacos enterrados, respectivamente, resultado que também indica diferenças relevantes entre os métodos.

As estimativas geradas pelos métodos dos sacos enterrados e dos tubos cobertos são mais consistentes, segundo Isaac e Timer (2007), mas não refletem as condições do local porque as variações de umidade e as perdas por lixiviação são excluídas da avaliação, e as estimativas obtidas com o método da resina são mais variáveis, por causa das flutuações na umidade do solo que é inerente ao método. Os impactos dos ciclos de molhamento e secamento do solo e de período de incubação com manutenção da umidade constante foram estudados por Guo et al. (2012). Os autores relataram aumento da mineralização com aumento da umidade do solo, atingindo a máxima mineralização em 10 dias. O comportamento de mineralização no solo em que foram alternados ciclos de molhamento e secamento foi semelhante ao do tratamento com umidade constante a 60% da capacidade de retenção de água, o que permitiu concluir que os processos de molhamento e secamento do solo variando de 90 a 30% da capacidade de retenção de água não alteram a mineralização. Durán, Morse e Groffman (2012) não obtiveram diferença na taxa de mineralização de N entre o método dos sacos enterrados e o das colunas cobertas: $\pm 0,4 \text{ mg kg}^{-1}$ por dia, o que equivale à aproximadamente 150 kg ha^{-1} de N por ano. Desta maneira, a escolha do método para estimar com precisão a mineralização do N é mais dependente de avaliação local ou regional.

Apesar das limitações dos métodos *in situ*, a medida da mineralização real de N só pode ser obtida em condições de campo. No entanto, apenas a comparação dos métodos em si não é suficiente para determinar estimativas de mineralização confiáveis, e há necessidade de validação da estimativa usando medidas como a da absorção de N pelas plantas (KHANNA; RAISON, 2012). Yan et al. (2006) relataram boa associação entre N mineralizado *in situ*, avaliado pelo método dos tubos cobertos, e o N absorvido por plantas de arroz. Salmerón-Miranda et al. (2007) também observaram relação linear do N mineralizado no solo com o N acumulado em plantas de milho ($r^2=0,80$) e feijão ($r^2=0,95$).

No Brasil, a pesquisa com os métodos *in situ* para avaliação da mineralização de N é recente, podendo ser citado o trabalho de Menezes e Salcedo (2007). Embora o objetivo dos autores não fosse avaliar a eficiência dos métodos de incubação na estimativa de mineralização de N, os métodos mostraram-se promissores quando aplicados a amostras de solo que receberam 20 t ha⁻¹ de esterco bovino e 15 t ha⁻¹ de ramas frescas de gliricídia. No entanto, para validação dos métodos é importante a comparação dos resultados de mineralização de N do solo com a quantidade absorvida pelas plantas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para estabelecer o método de determinação da mineralização de N mais adequado foram avaliados métodos de laboratório e de campo. As amostras de solo utilizadas na aplicação dos métodos foram coletadas de uma mesma área onde foi instalado experimento em campo, no qual foram avaliadas doses de esterco bovino. O experimento foi conduzido por quatro anos, as doses de esterco foram aplicadas no primeiro e reaplicadas no terceiro ano, e o milho foi a espécie cultivada nos quatro anos. O primeiro ano do experimento foi conduzido por Fernando Kuhnen e por Thiago de Barros Sylvestre e os dados foram parcialmente publicados em forma de tese (KUHLEN, 2013; SYLVESTRE, 2013). A seguir estão detalhados os procedimentos utilizados na instalação e condução do experimento desde o primeiro ano (itens 3.1 e 3.2), bem como os métodos de incubação de solo em laboratório e no campo (item 3.3). Os dados do primeiro ano foram agrupados aos dos três anos subsequentes na apresentação dos resultados.

3.1 Local do experimento no campo, características do clima, do solo e do esterco bovino

O experimento no campo foi instalado no município de Jaboticabal-SP e conduzido no mesmo local nos anos 2011/2012 (Ano 1), 2012/2013 (Ano 2), 2013/2014 (Ano 3) e 2014/2015 (Ano 4). As coordenadas do local do experimento são: Latitude 21°14'05" S, Longitude 48°17'09" W, e a altitude é de 615,01 m. O solo é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico de textura média (EMBRAPA, 2013).

Na Figura 1 estão os valores médios mensais de temperatura máxima e mínima e de precipitação mensal acumulada dos quatro anos. Na Tabela 1 estão os valores médios de temperatura mínima, máxima e média e a precipitação pluvial acumulada registrados durante a permanência da cultura de milho no campo (novembro a abril), em cada ano. Os dados de temperatura do ar, máxima e mínima, e de precipitação pluvial, foram obtidos na Estação Meteorológica Automática

(EMA), localizada na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal (SP).

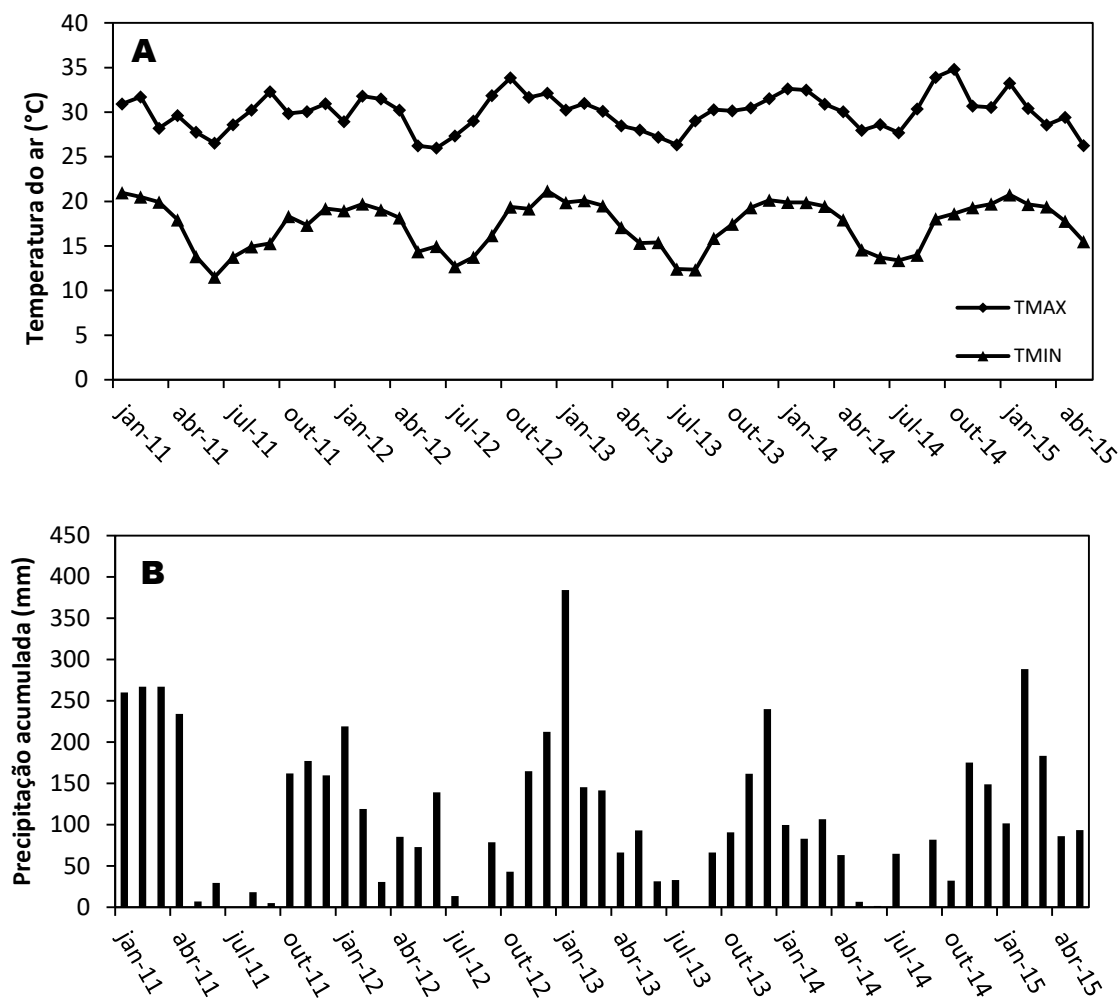


Figura 1. Dados meteorológicos dos anos de 2011 a 2015: (A) média mensal da temperatura máxima e mínima; (B) precipitação acumulada mensal.

Tabela 1. Valores médios de temperatura mínima, máxima e média, e precipitação pluvial acumulada durante os meses de condução do experimento no campo (novembro a abril de cada ano).

Ano	Temperatura (°C)			Precipitação pluvial (mm)
	Mínima	Máxima	Média	
2011/2012	18,9	30,6	24,7	934
2012/2013	20,1	30,5	25,3	901
2013/2014	19,9	31,9	25,9	533
2014/2015	19,8	30,6	25,2	789

As características químicas do solo determinadas em amostra coletada na camada de 0 a 20 cm, antes da implantação do experimento em campo, em outubro de 2011, foram: P resina, 15 mg dm⁻³; MO, 16 g dm⁻³; pH em CaCl₂, 5,5; K⁺, 1,2 mmol_c dm⁻³; Ca²⁺, 22 mmol_c dm⁻³; Mg²⁺, 11 mmol_c dm⁻³; H+Al, 22 mmol_c dm⁻³; Al³⁺, 0 mmol_c dm⁻³; SB, 34 mmol_c dm⁻³; CTC, 56 mmol_c dm⁻³; V, 61%. Na análise granulométrica da amostra da camada de 0 a 20 cm foram determinados 340 g kg⁻¹ de argila, 20 g kg⁻¹ de silte e 640 g kg⁻¹ de areia. Os métodos utilizados nas análises químicas e granulométricas estão descritos em Raji et al. (2001) e Camargo et al. (2009), respectivamente.

Amostras do esterco aplicado em 2011/2012 e 2013/2014 foram analisadas quanto a: pH CaCl₂, conforme procedimento proposto por Kiehl (1985); C total e N total por combustão via seca, em equipamento LECO CN628 (Leco Corp., St. Joseph, MI); N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻, usando método descrito em Cantarella e Trivelin (2001); fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina, de acordo com o método sequencial proposto pela Ankon Fiber Analyser (Ankon Technology Corporation, Fairport, NY), segundo Goering e Van Soest (1970). Os teores de hemicelulose e celulose foram obtidos pelas diferenças FDN-FDA e FDA-lignina, respectivamente. Os resultados estão na Tabela 2.

Tabela 2. Características do esterco bovino aplicado ao solo nos anos agrícolas 2011/2012 e 2013/2014.

Ano	pH CaCl ₂	C total	N total	C/N	N- NH ₄ ⁺	N- NO ₃ ⁻	Hemicelulose	Celulose	Lignina	Lignina/N
		--g kg ⁻¹	--		--mg kg ⁻¹	--	-----	g kg ⁻¹	-----	
2011/2012	6,9	260	10,9	24	61,3	18,8	150	360	110	10
2013/2014	7,1	203	14,8	14	31,3	7,8	122	537	100	7

3.2. Experimento no campo

3.2.1. Delineamento experimental e tratamentos

O experimento em campo foi instalado em delineamento em blocos ao acaso, com cinco tratamentos e quatro repetições (Figura 2). Os tratamentos foram constituídos de quatro doses de esterco bovino: 10, 20, 30 e 40 t ha⁻¹ em base seca

(E10, E20, E30 e E40, respectivamente) e um tratamento controle que não recebeu esterco (E0). As doses foram estabelecidas com base na recomendação da Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (CFSEMG, 1999), segundo a qual devem ser aplicadas de 20 a 40 t ha⁻¹ de esterco bovino, em área total, com expectativa de mineralização de 50% do N no primeiro ano. Esta recomendação foi escolhida por ter caráter geral, ou seja, as doses recomendadas não variam com a cultura.

Cada parcela foi constituída por oito linhas de milho espaçadas entre si de 0,8 m com 7 m de comprimento (44,8 m²) e densidade de 62.500 plantas ha⁻¹ (5 plantas por metro linear). Foram consideradas bordaduras as duas linhas externas e 0,5 m em cada uma das extremidades (Figura 3). A produção foi avaliada nas linhas 6 e 7 nos anos pares e nas linhas 2 e 3 nos anos ímpares, seguindo o esquema apresentado na Figura 3. A alternância foi estabelecida em função do método de coleta de plantas e dos métodos de determinação de mineralização de N *in situ*, que serão descritos posteriormente (item 3.3.2.).

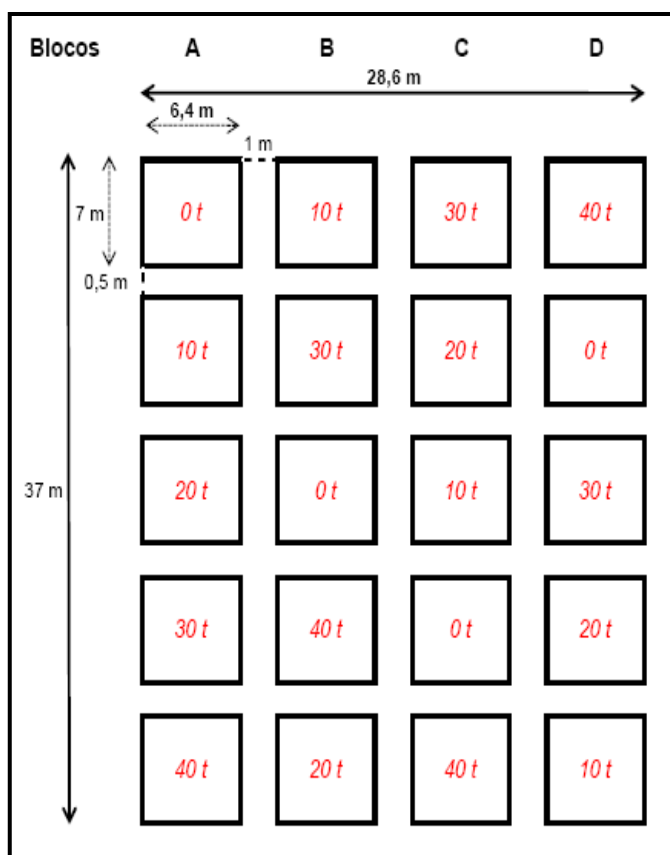


Figura 2. Disposição dos blocos e tratamentos na área experimental.

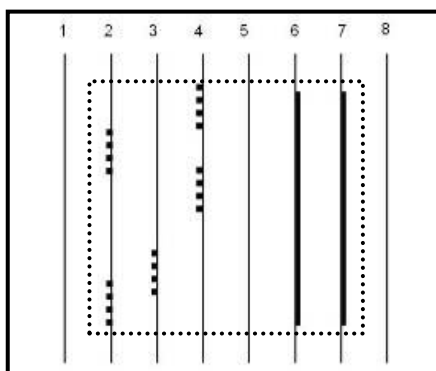


Figura 3. Esquema da parcela, com definição do procedimento de amostragem de plantas e de avaliação de produção. ••• amostragem das plantas; — avaliação da produção.

3.2.2. Instalação, condução e avaliações do experimento

Em 2011, a área do experimento foi arada e gradeada e, com base nas características químicas do solo, não foi feita aplicação de calcário, uma vez que o valor de V estava maior do que 60% (CANTARELLA; RAIJ, 1996). A aplicação do esterco e a semeadura do milho foram feitas no mesmo dia, em 02-11-2011. Antes da semeadura do milho foi feita distribuição manual do esterco em área total e incorporação com enxada, na profundidade de 0 a ± 18 cm. As quantidades de esterco aplicadas foram calculadas e corrigidas em função da umidade e para obter maior uniformidade na aplicação, as parcelas foram divididas em faixas de 0,8 m de largura (Figura 4).

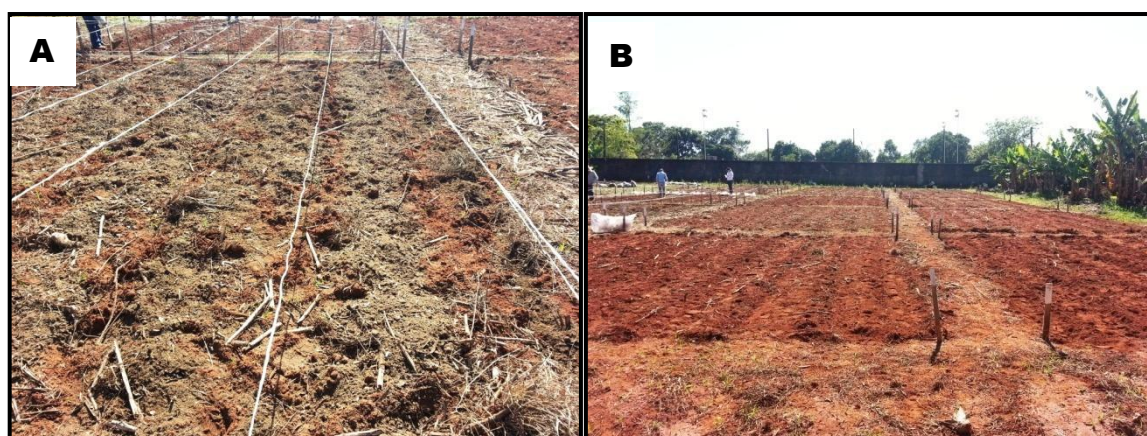


Figura 4. Vista do experimento em campo no dia da aplicação do esterco e da semeadura do milho. A) Distribuição do esterco bovino dentro da parcela antes da incorporação. B) Vista dos blocos em campo. Jaboticabal, UNESP, 2016.

A adubação de semeadura do milho foi feita em sulcos abertos com enxada a aproximadamente 8 cm de profundidade, onde foram aplicados os adubos. Com base na análise química do solo e na meta de produtividade (6 a 8 t ha⁻¹ de grãos) foi feita aplicação de 22,2 g de superfosfato simples e 7,0 g de cloreto de potássio (KCl) por metro (correspondentes a 50 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 50 kg ha⁻¹ K₂O) (CANTARELLA; RAIJ, 1996). O fornecimento de N foi feito exclusivamente via esterco bovino. Os adubos foram cobertos com solo, deixando o sulco com aproximadamente 5 cm de profundidade para colocação das sementes. A semeadura foi manual, com 10 sementes de milho por metro. Após a germinação foi realizado desbaste das plantas deixando 5 plantas por metro. Trinta dias após a semeadura foram aplicados, em cobertura, ao lado das plantas, 2,8 g de KCl por metro (equivalentes a 20 kg ha⁻¹ de K₂O (CANTARELLA; RAIJ, 1996). O milho foi colhido em 02-03-2012, os restos culturais foram picados com roçadeira e foram deixados sobre o solo. A área permaneceu em pousio até final de novembro de 2012, quando foi iniciado o segundo ano de avaliações.

No segundo ano do experimento não foi feita aplicação de esterco bovino. O milho foi semeado em 10-12-2012. A abertura dos sulcos foi feita com enxada, e a semeadura e as adubações foram feitas manualmente. A adubação fosfatada e potássica seguiu a recomendação de Cantarella e Raij (1996), adotando a análise de solo inicial e a mesma meta de produtividade do primeiro ano. A colheita do milho foi feita em 02-05-2013 e, em seguida, foi feita amostragem de solo na camada de 0 a 20 cm nas entrelinhas do milho, por parcela experimental, coletando-se 20 subamostras por amostra. Com base na análise de solo foi feito cálculo de necessidade de calagem, por parcela, para elevar o índice de saturação por bases a 70% (CANTARELLA; RAIJ, 1996). Antes da aplicação do calcário os restos da cultura foram picados com roçadeira e retirados das parcelas. O calcário foi distribuído manualmente, mas não foi incorporado, e os restos culturais foram recolocados nas parcelas.

Em 09-11-2013, após a reaplicação e incorporação do esterco nas parcelas, foi realizada a semeadura do milho, assim como a adubação. A adubação com P e K foi a mesma aplicada nos dois anos anteriores. A colheita dos grãos foi feita em 29-04-2014. Os restos culturais foram picados com roçadeira e a área permaneceu em

pousio até início de novembro de 2014, quando foi iniciado o quarto ano do experimento. No quarto ano não foi feita aplicação do esterco, a semeadura foi feita em 06-12-2014, a adubação foi a mesma utilizada no ano 3, e a colheita foi feita em 15-04-2015.

Para obtenção do N absorvido pelas plantas de milho, no primeiro ano a coleta das plantas foi feita aos 14, 21, 28, 49, 70, 91 e 112 dias após a semeadura. Nos anos seguintes a coleta foi feita aos 30, 60, 90 e 120 dias. Foram coletadas cinco plantas de milho (1 metro), as quais foram cortadas a 1 cm da superfície do solo. Admitindo a bordadura como linha 1, as amostragens de plantas foram nas linhas 2 e 3 nos anos pares e 6 e 7 nos anos ímpares (Figura 3). A parte aérea das plantas de milho foi lavada em água corrente e em solução de detergente neutro (1 mL L^{-1}), enxaguadas em água corrente e em água deionizada, e secas em estufa com circulação forçada de ar a cerca de $65^{\circ}\text{C} \pm 5$ até peso constante. As plantas coletadas em cada época, após secas até peso constante, foram pesadas para obtenção da matéria seca da parte aérea e moídas para determinação de N total, conforme o método descrito em Carmo et al. (2000). A matéria seca e a concentração de N nas plantas de milho foram utilizadas para calcular as quantidades de N absorvidas.

Para avaliação da produtividade do milho foram colhidas as espigas das linhas 2 e 3 nos anos pares e 6 e 7 nos anos ímpares, desprezando 0,5 m de cada extremidade (Figura 3). Os grãos foram pesados, a umidade foi determinada e a produtividade foi corrigida considerando grãos com 13% de umidade.

3.3 Determinação da taxa de mineralização de N do esterco bovino

3.3.1 Método de incubação em laboratório

Foram conduzidos quatro ensaios de mineralização em laboratório, um para cada ano agrícola do experimento no campo. O solo utilizado nos experimentos foi coletado em área total no primeiro ano e por parcela nos anos seguintes. As amostras foram coletadas antes da semeadura do milho, na camada de 0 a 20 cm, e obtidas da reunião e mistura de 20 subamostras. No laboratório, as amostras foram

espalhadas sobre pedaços de plástico e revolvidas periodicamente para secagem rápida e interrupção da atividade microbiana. Depois de secas, as amostras foram destorroadas, passadas por peneira de 2 mm de abertura de malha e homogeneizadas.

Nos anos 1 e 3 as amostras de solo foram misturadas com esterco bovino, a seco. O cálculo foi feito com base no volume de solo da camada de 0-20 cm. Foi utilizado o mesmo esterco aplicado no campo, em cada ano. Nos anos 2 e 4 as amostras de solo provenientes do campo foram incubadas sem adição de esterco bovino. O ensaio de mineralização foi conduzido com quatro repetições. As doses de esterco avaliadas no primeiro ano foram 0 e 20 t ha⁻¹ e, nos anos subsequentes, todas as doses em avaliação no experimento em campo (0, 10, 20, 30 e 40 t ha⁻¹).

As amostras foram submetidas à incubação aeróbia de longa duração, seguindo-se procedimento proposto por Stanford e Smith (1972), com modificação no tempo e na temperatura de incubação, conforme está descrito a seguir. Volumes equivalentes a 15 cm³ de solo e 15 cm³ de areia fina lavada com solução de HCl 6 mol L⁻¹ foram misturados e colocados em colunas de vidro para percolação. As colunas têm capacidade de 100 mL e a mistura solo+areia foi colocada entre camadas de lã de vidro de 30 mm e 10 mm, na parte inferior e superior, respectivamente. As colunas foram mantidas em BOD com temperatura ajustada para 23°C por 10 horas e 28°C por 14 horas, procedimento que simula a variação diária de temperatura do solo em Jaboticabal, no verão.

A quantidade de N mineralizado (N-NH₄⁺ + N-NO₃⁻) em função do tempo de incubação nos tubos percoladores foi determinada em extratos obtidos através de percolação de 100 mL de solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹, após 0, 3, 7, 14, 21, 28, 49, 70, 91 e 112 dias de incubação (CANTARELLA; TRIVELIN, 2001). Em cada coluna de percolação, após a coleta do percolado, foi feita a adição de solução nutritiva sem N, contendo CaSO₄.2H₂O 0,002 mol L⁻¹, MgSO₄.7 H₂O 0,002 mol L⁻¹ e KH₂PO₄ 0,005 mol L⁻¹ e, em seguida, foi aplicado vácuo de 0,067 MPa para ajuste da umidade nos tubos percoladores, entre 50 e 60% da capacidade de retenção de água.

3.3.2 Métodos de incubação em campo

Para avaliação da taxa de mineralização de N em campo utilizaram-se dois métodos de incubação: (a) tubos de PVC abertos com resina trocadora de íons (KOLBERG et al., 1997); (b) sacos de polietileno enterrados (ENO, 1960), com adaptações na quantidade de solo incubada e nos tempos de incubação.

a) Tubos de PVC abertos com resina trocadora de íons

Em cada ano de condução do experimento em campo foram coletadas, antes da semeadura do milho, amostras de solo indeformadas, com tubos de PVC de 7 cm de diâmetro e 21 cm de comprimento (Figura 5).

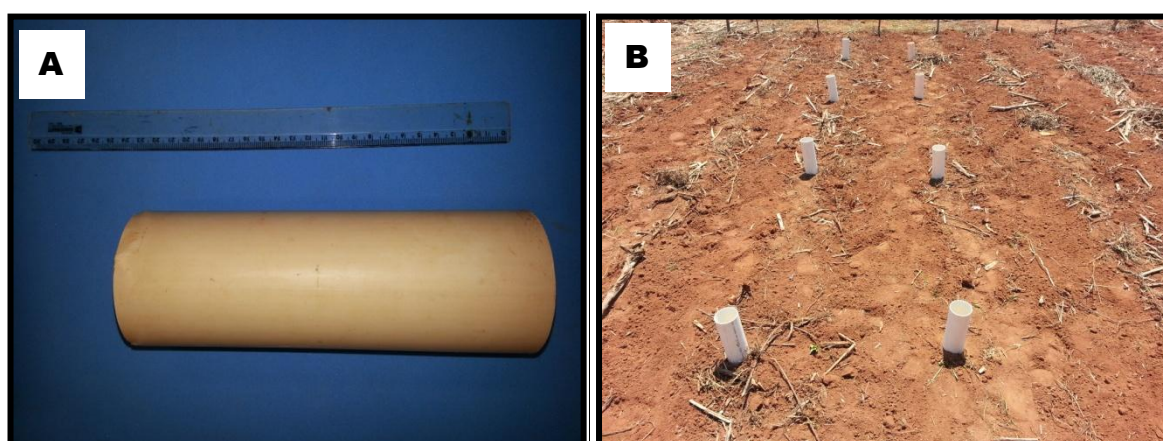


Figura 5. Tubo de PVC utilizado no método de incubação em campo (A) e disposição dos tubos de PVC na parcela experimental (B).

No primeiro ano os tubos de PVC foram introduzidos entre as linhas 2 e 3 e 3 e 4, nos tratamentos E0 e E20 (Figura 3). Nos anos seguintes os tubos de PVC foram colocados em todas as parcelas (tratamentos E0, E10, E20, E30 e E40), entre as linhas 5 e 6 e 6 e 7 no segundo e quarto anos e entre as linhas 2 e 3 e 3 e 4 no terceiro ano. Após a inserção e a remoção dos tubos foi retirado, com auxílio de espátula, 1 centímetro do solo do fundo do tubo, onde foi colocado um saco de malha elástica (tecido a base de poliamida, 84%, e elastano, 16%, usado na fabricação de meias femininas) contendo 45 gramas de resina trocadora de íons. Foi utilizada a resina Purolite[®] MB-400, apresentando 60% das cargas na forma

aniônica e 40% de forma catiônica. Antes do uso a resina passou por tratamento para que os grupos funcionais fossem saturados com Na^+ e HCO_3^- . Detalhes do procedimento de preparo da resina estão descritos em Raij e Quaggio (2001). Para instalação no campo, o conjunto foi envolvido em rede de nylon para evitar que o saco com resina se separasse do tubo, e os tubos foram reinseridos nos pontos de coleta.

No ano 1, a coleta dos tubos para avaliação do N-mineral do solo e da resina foi feita com duas repetições por data de amostragem, em cada parcela, aos 0, 3, 7, 14, 21, 28, 49, 70, 91 e 112 dias após a instalação do experimento. Nos anos 2, 3 e 4 a coleta dos tubos foi feita aos 0, 30, 60, 90 e 120 dias de incubação, também com duas repetições por data de amostragem, em cada parcela. Após a coleta dos tubos no campo, o conjunto tubo + saco com resina foi levado para o laboratório para determinação de N-mineral no solo e na resina.

Na determinação de N-mineral (NH_4^+ e N-NO_3^-) retido na resina, o saco contendo a resina foi lavado em água deionizada, sequencialmente em três recipientes, para a remoção de solo. A extração foi feita agitando as resinas com 20 mL de solução de KCl 2 mol L^{-1} por 15 minutos. Foram feitas cinco extrações sucessivas e os extratos de uma mesma amostra foram coletados em balão volumétrico de 100 mL, cujo volume foi completado e homogeneizado (KOLBERG et al., 1997). Do volume total foram retirados 10 mL para destilação em destilador Kjeldahl com a adição de MgO e liga de Devarda, para obtenção de N-NH_4^+ e N-NO_3^- , respectivamente, conforme descrito em Cantarella e Trivelin (2001).

Para determinação do N-mineral no solo dos tubos, fez-se a pesagem do conjunto (solo + tubo), o solo foi retirado dos tubos, destorroado e homogeneizado e foi obtida a tara do tubo. Foram pesados 10 g de solo para determinação da umidade a $45-50^\circ\text{C}$ até peso constante. Outros 10 g foram pesados e utilizados para extração do N-mineral usando 100 mL de solução de KCl 1 mol L^{-1} e agitação por uma hora, seguida de 1 hora e 30 minutos de repouso. Do sobrenadante foi retirada alíquota de 20 mL que foi submetida a destilação adotando o mesmo procedimento aplicado às resinas (CANTARELLA; TRIVELIN, 2001). Os resultados foram expressos em base seca. O N mineralizado acumulado do solo em cada tubo e para cada data de coleta foi calculado do seguinte modo: $[(\text{N}_{\text{ mineral do solo no tempo n}} - \text{N}_{\text{ mineral$

do solo no tempo zero) + N mineral da resina (N-NH_4^+ + N-NO_3^-)]. Os valores foram expressos em kg ha^{-1} .

b) Sacos de polietileno enterrados

No método dos sacos de polietileno enterrados proposto por Eno (1960) foram utilizados sacos de polietileno (6 cm de largura, 10,5 cm de comprimento e 0,08 mm de espessura) com fecho hermético, contendo amostras do solo coletadas antes da semeadura do milho no experimento do campo, na camada de 0 a 20 cm (Figura 6).



Figura 6. Amostra do esterco que foi misturado ao solo do saco de polietileno com fecho hermético para incubação no campo.

A amostra de solo do primeiro ano foi coletada em área total e nos anos seguintes foi feita coleta por parcela. As amostras de solo foram secas, peneiradas (4 mm) e, posteriormente, 50 g de solo foram colocados nos sacos de polietileno e umedecidos com água deionizada para atingir 60% da capacidade de retenção. No campo, os sacos foram fechados e enterrados a 10 cm de profundidade nas parcelas de origem, intercalados aos tubos de PVC com resina. Nos anos 1 e 3 foram misturadas quantidades de esterco equivalentes a 0, 10, 20, 30 e 40 t ha^{-1} às subamostras de 50 g de solo. Nos anos 2 e 4 as subamostras de 50 g foram incubadas com a finalidade de avaliar o efeito residual do esterco. Os sacos foram retirados ao acaso aos 0, 30, 60, 90 e 120 dias de incubação, com duas repetições

por data de amostragem, em cada parcela. Após cada coleta, os sacos foram levados ao laboratório, o solo contido nos sacos foi homogeneizado, e o N inorgânico foi determinado seguindo procedimento proposto por Cantarella e Trivelin (2001). O N mineralizado acumulado do solo em cada saco de polietileno e para cada data de coleta foi calculado como : ($N_{\text{mineral do solo no tempo } n} - N_{\text{mineral do solo no tempo zero}}$). Os valores foram expressos em kg ha^{-1} .

3.4 Tratamento estatístico dos dados

A partir dos dados de N mineralizado acumulado (N_{mac}) determinado na incubação em laboratório foi calculado o N potencialmente mineralizável (N_0) utilizando modelo exponencial de primeira ordem ou modelo de crescimento (STANFORD; SMITH, 1972):

$$N_m = N_0(1 - e^{-kt}) \quad \text{Eq. 1}$$

em que N_m : nitrogênio mineralizado no tempo t ; N_0 : nitrogênio potencialmente mineralizável; k : constante da taxa de mineralização, e t : tempo.

Os dados de N mineralizado obtidos experimentalmente pelo método de incubação aeróbica em laboratório e os dados estimados a partir do modelo foram submetidos à regressão linear e o modelo foi avaliado quanto a acurácia, pelo erro porcentual absoluto médio (MAPE, Eq.2), e quanto a precisão, pelo coeficiente de determinação (R^2 , Eq.3). O erro sistemático (E_s , Eq. 4) foi calculado como medida de tendência.

$$MAPE = \frac{\sum_{i=1}^n \left(\left[\frac{Y_{est_i} - Y_{obs_i}}{Y_{obs_i}} \right] \times 100 \right)}{n} \quad \text{Eq. 2}$$

Em que: n é o número de observações, Y_{obs_i} é o valor observado em i (enésima medição), Y_{est_i} é o valor estimado em i .

$$R^2 = \frac{SQR}{SQT} = \frac{\sum_{i=1}^n \left(Yest_i - \bar{Y} \right)^2}{\sum_{i=1}^n \left(Yobs_i - \bar{Y} \right)^2} \quad \text{Eq. 3}$$

Em que: n é o número de observações, $Yobs_i$ é o valor observado i (enésima medição), $Yest_i$ é o valor estimado em i , \bar{Y} é a média do valor estimado em i .

$$Es = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \left(Yobs_i - \bar{Y} \right)^2}{n}} \quad \text{Eq. 4}$$

Em que: n é o número de observações, $Yobs_i$ é o valor observado em i (enésima medição), \bar{Y} é a média do valor estimado em i .

Não foi possível o cálculo do N_0 usando o modelo exponencial de primeira ordem para os anos com aplicação de esterco bovino (anos 1 e 3). Desta forma, os dados foram ajustados ao modelo de regressão linear para descrever o N mineralizado acumulado.

Foram também realizadas análises de correlação para comparação dos métodos de incubação. Nas correlações foram utilizados os resultados do N mineralizado determinado pelo método de incubação em laboratório (N_{mac} em todas as datas de avaliação) incubação em campo através do método dos tubos com resinas trocadoras de íons (Tubos), e o método dos sacos de polietileno enterrado (Sacos); a matéria seca da parte aérea das plantas de milho (MSPA), o N absorvido acumulado (N_{abs}) na MSPA e a produtividade da cultura (Prod).

A fração de mineralização (FM) do N orgânico do esterco bovino, expressa em %, foi calculada seguindo o procedimento descrito na Norma P4.230, de acordo com CETESB (1999):

$$FM = \left(\frac{N_{me} - N_{ms}}{N_{adicionada}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 5}$$

em que: N_{me} : nitrogênio mineralizado no tratamento com esterco (kg ha^{-1}); N_{ms} : nitrogênio mineralizado no tratamento sem esterco (kg ha^{-1}); $N_{adicionado}$: quantidade de nitrogênio adicionado na forma de esterco bovino (kg ha^{-1})

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Mineralização do N orgânico do esterco bovino em laboratório

Na Figura 7 estão as curvas de mineralização do N (N_m) do solo e do solo + esterco obtidas com o método de laboratório, nos quatro anos. Em todos os tratamentos a quantidade de N mineralizada avaliada no terceiro dia de incubação foi relativamente elevada e diminuiu em seguida, até 28 dias. A mineralização maior nas avaliações iniciais, particularmente três dias após o início da incubação, pode ser atribuída ao manuseio e preparo das amostras (STANFORD; SMITH, 1972; RHODEN et al., 2006), somado à mineralização rápida das frações mais lábeis da matéria orgânica do solo (YAGI et al., 2009; HANAN et al., 2016). Estas frações mais lábeis, além de estarem presentes no solo, também fazem parte do esterco e podem ser mineralizadas rapidamente.

No intervalo entre 3 e 21 ou 28 dias de incubação, dependendo do ano, houve imobilização de N (Figura 7). Apesar de ter ocorrido nos quatro anos, a imobilização foi maior nos anos em que foi feita aplicação do esterco (2011/2012 e 2013/2014, anos 1 e 3 na Figura 7). A relação C/N do esterco que foi utilizado nos experimentos, assim como outras características que são associadas com os processos de transformação do N orgânico no solo, como celulose, hemicelulose e lignina (Tabela 2), estavam dentro de intervalos citados na literatura, mas a relação C/N do material aplicado no primeiro ano estava acima da média (VAN KESSEL; REEVES III, 2002; SBIH; N'DAYEGAMIYE; KARAM, 2003; CALDERÓN et al., 2004; GRIFFIN; HONEYCUTT, 2005; GRIFFIN, HE; HONEYCUTT, 2005; PROBERT et al., 2005).

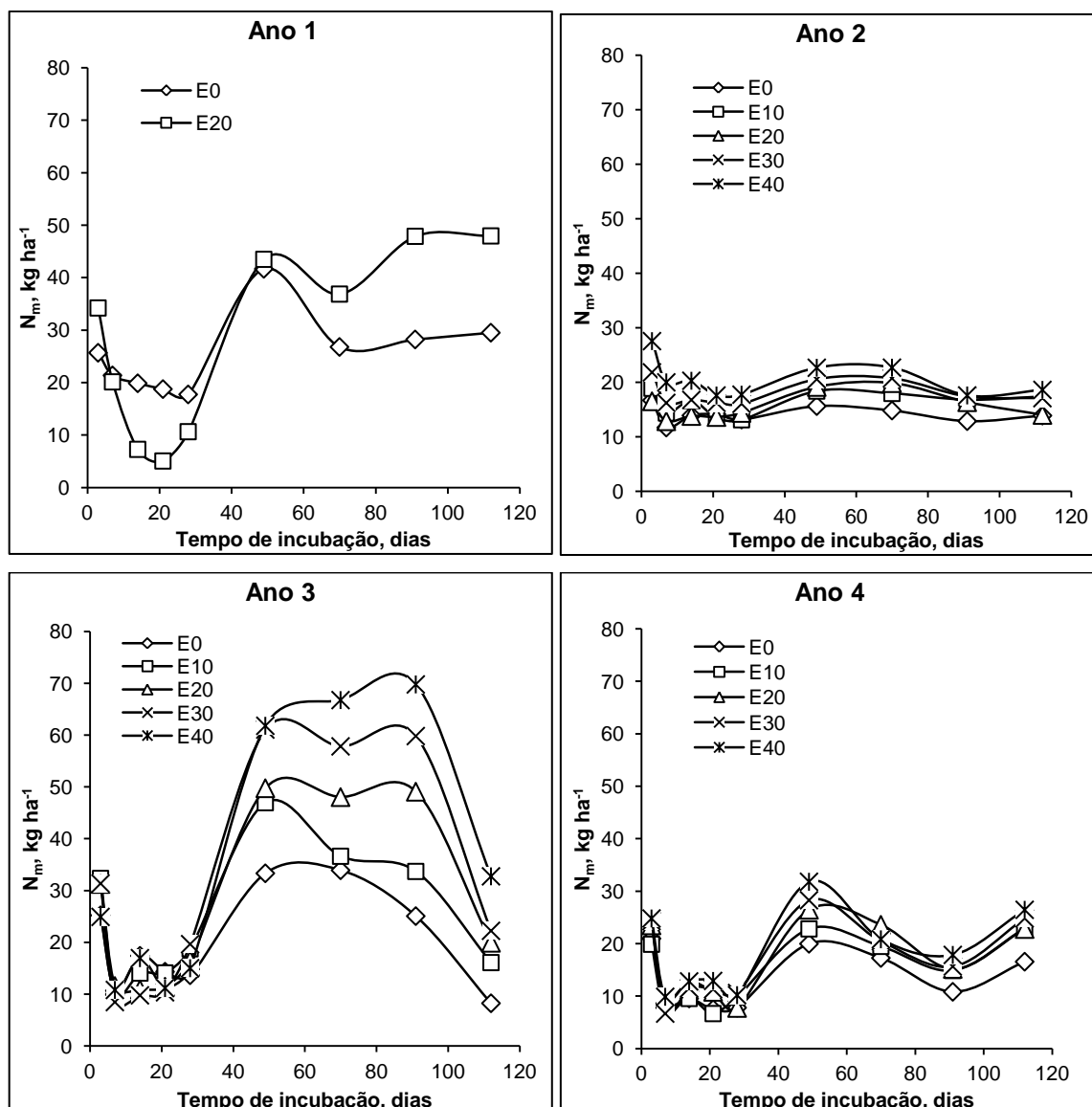


Figura 7. Quantidades de N mineralizadas (N_m) em amostras de solo coletadas em 2011, 2012, 2013 e 2014 (anos 1, 2, 3 e 4, respectivamente) nos tratamentos com e sem aplicação de esterco, com o método de incubação aeróbica em laboratório. A aplicação do esterco foi feita nos anos 2011 e 2013 e as doses de esterco (E) foram 0, 10, 20, 30 e 40 t ha⁻¹.

A partir de 28 dias de incubação houve tendência de estabilização, com aumentos seguidos de diminuições, até o final do período de avaliação. O aumento do N_m entre 28 e 49 dias reflete o aumento no intervalo de avaliação, que era de 7 dias, e passou para 21 dias. Fora deste intervalo, os aumentos na quantidade de N_m seguidos de diminuição que se observa em todas as doses de esterco e no próprio solo sem esterco (Figura 7), define alternância entre maior taxa de imobilização e maior taxa de mineralização. Este comportamento é associado à liberação inicial de nutrientes e aumento da biomassa microbiana. Com o aumento da biomassa, aumenta a taxa de imobilização e quando há esgotamento dos nutrientes disponíveis inicia-se novo ciclo com a morte dos microrganismos, mineralização do conteúdo celular, aumento da disponibilidade de nutrientes, aumento da biomassa e imobilização (AZEEZ; VAN AVERBEKE, 2010).

4.2. Nitrogênio mineralizado acumulado determinado por métodos de incubação do solo no laboratório e no campo

Nos quatro anos de avaliação o N mineralizado acumulado (N_{mac}) variou dependendo do método: laboratório, sacos de polietileno enterrados e tubos de PVC abertos com resina trocadora de íons. Nas Figuras 8 a 12 estão as curvas de N_{mac} em função do tempo de incubação obtidas com os três métodos, para cada dose de esterco, respectivamente, e na Tabela 3 estão as quantidades de N_{mac} no final da incubação com os três métodos.

Em todos os anos, os maiores valores de N_{mac} foram obtidos com a incubação em laboratório, e os menores com a incubação *in situ*, usando o método dos tubos (Tabela 3). No método de laboratório empregam-se condições de umidade e temperatura de incubação constantes, e amostra de solo deformada, o que favorece o processo de mineralização e justifica os maiores valores de N_{mac} . A incubação em sacos enterrados é feita usando amostras deformadas, em umidade constante e temperatura variável, o que, em algum momento, pode tornar o ambiente do solo menos favorável à mineralização do que o ambiente do laboratório. O método dos tubos permite quantificar o N mineralizado nas condições reais de temperatura e

umidade do campo (HATCH et al., 2000; KOLBERG et al., 1997) e, nestas condições, a mineralização pode ser limitada ou interrompida a qualquer tempo.

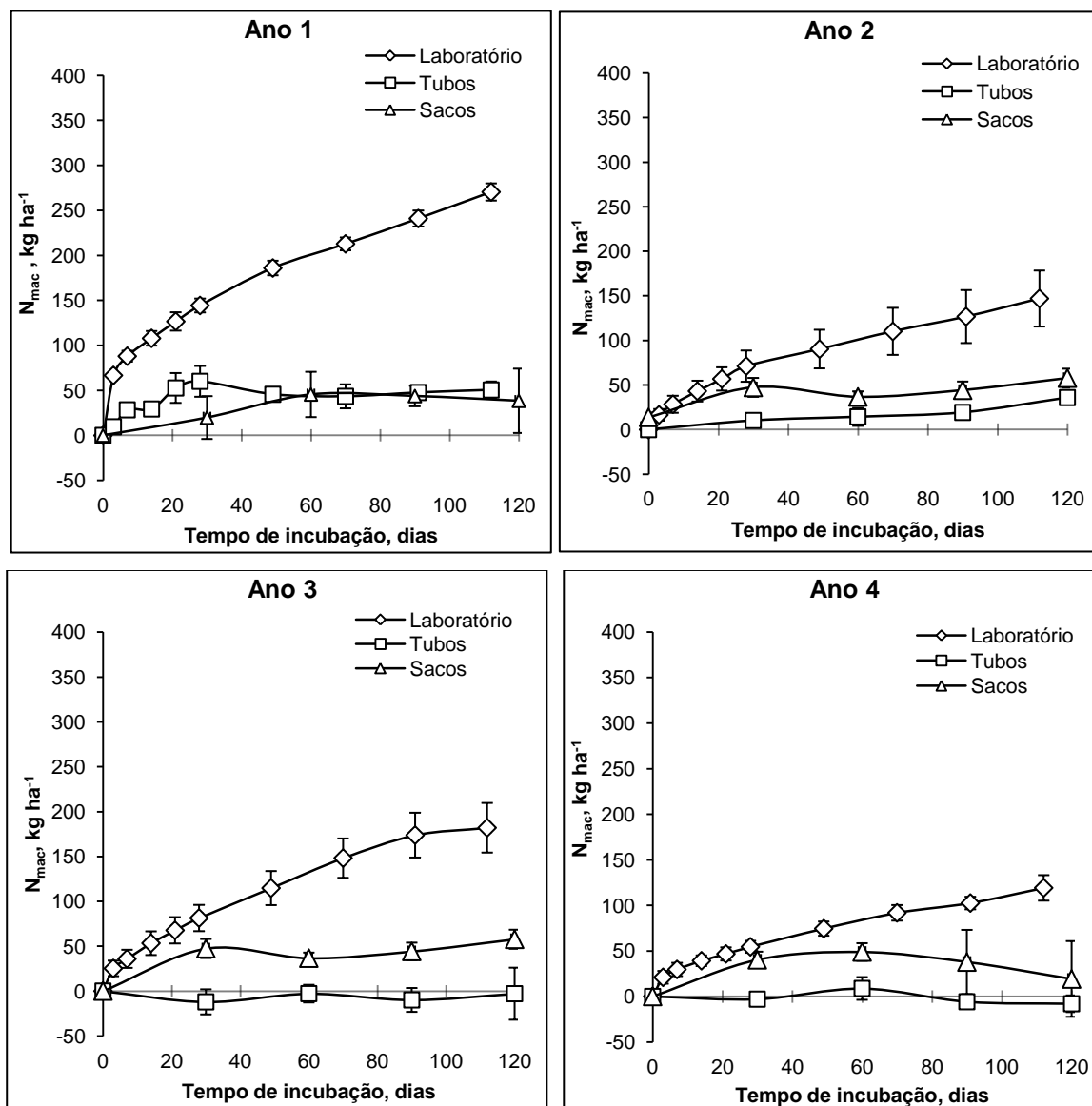


Figura 8. Nitrogênio mineralizado acumulado (N_{mac}) avaliado pelos métodos de incubação em laboratório, tubos com resinas trocadoras de íons e sacos de polietileno enterrados, no tratamento sem aplicação de esterco (E0).

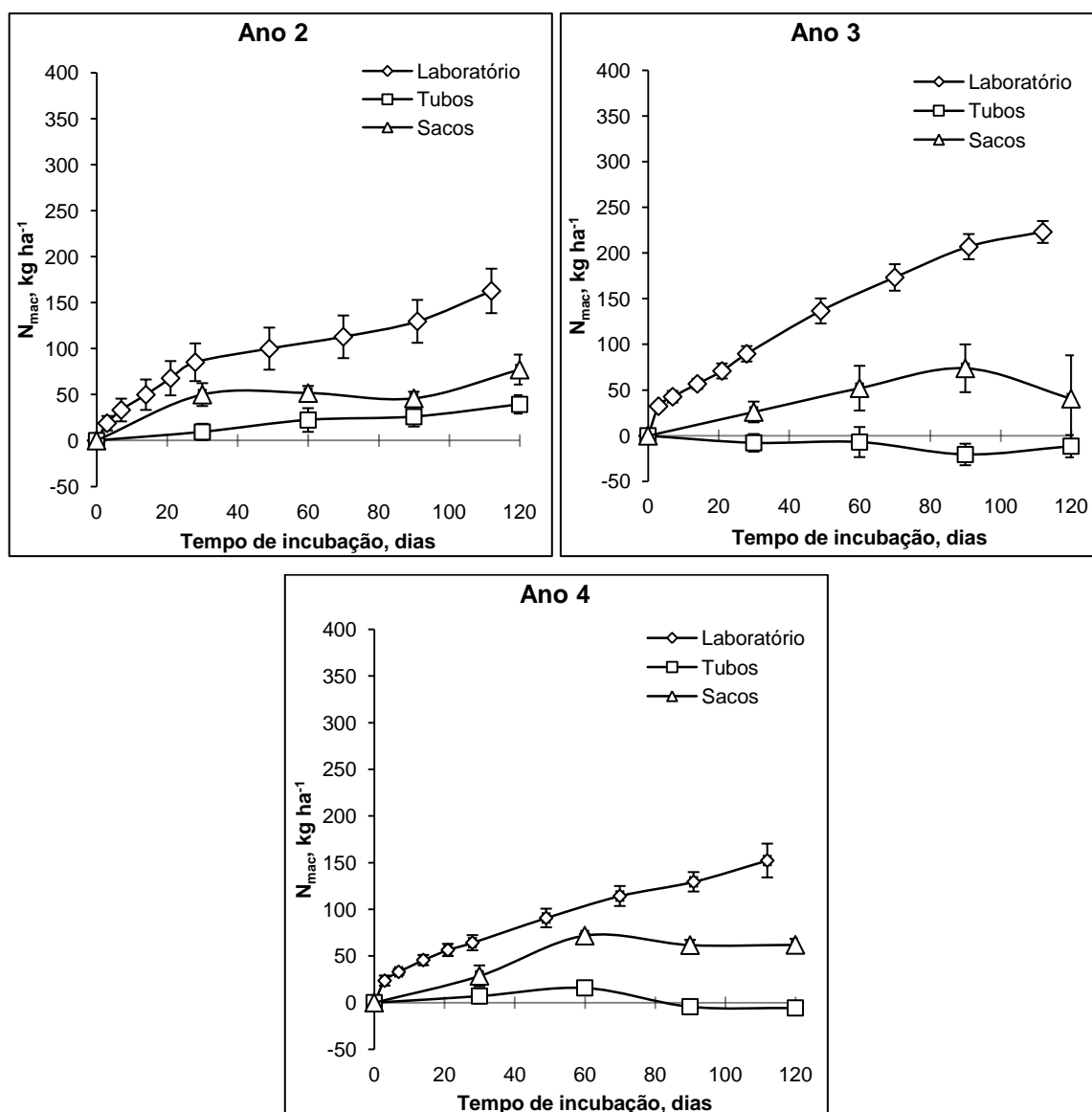


Figura 9. Nitrogênio mineralizado acumulado (N_{mac}) avaliado pelos métodos de incubação em laboratório, tubos com resinas trocadoras de íons e sacos de polietileno enterrados, no tratamento com aplicação de $10\ t\ ha^{-1}$ de esterco bovino (E10).

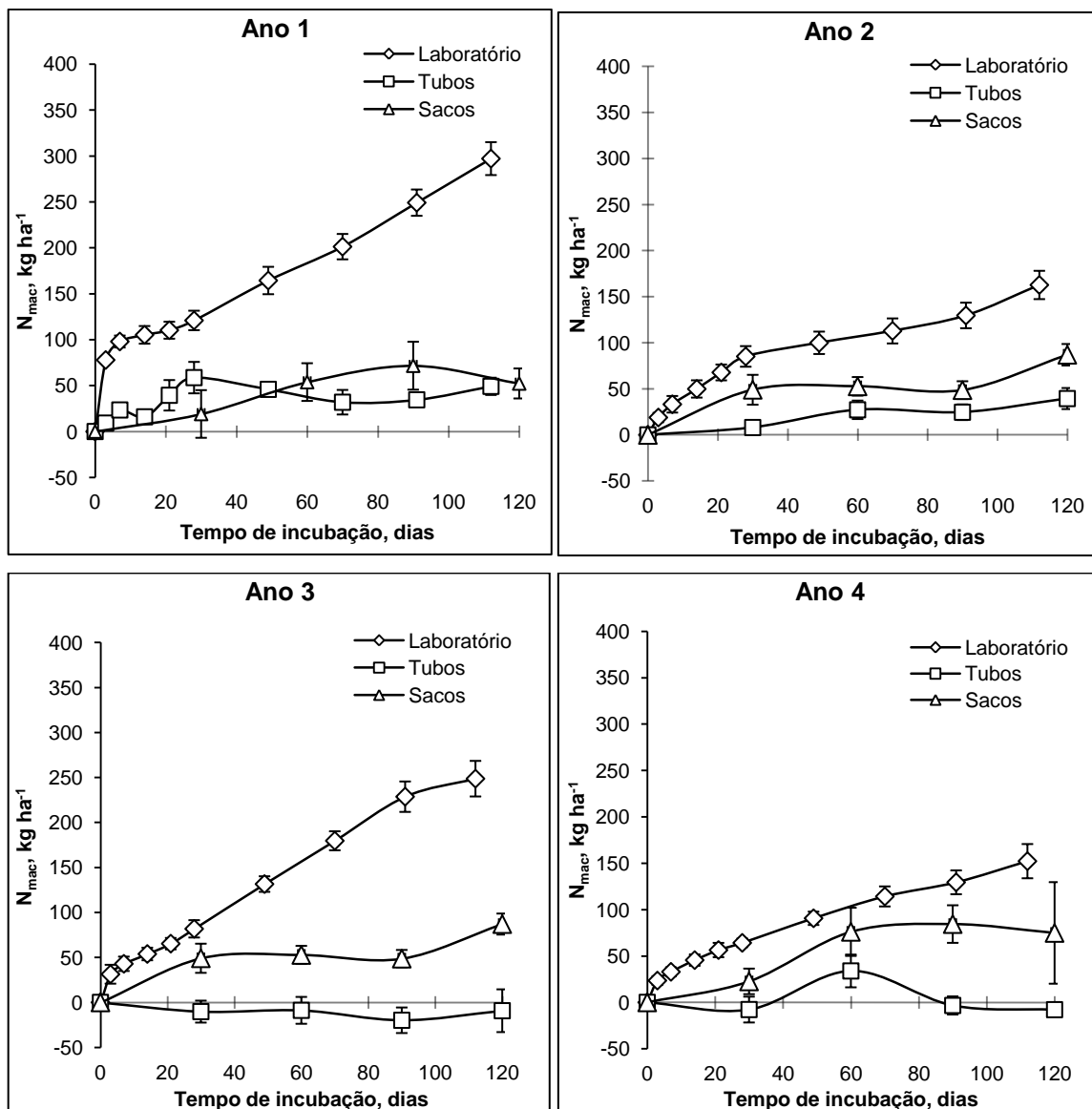


Figura 10. Nitrogênio mineralizado acumulado (N_{macr}) avaliado pelos métodos de incubação em laboratório, tubos com resinas trocadoras de íons e sacos de polietileno enterrados, no tratamento com aplicação de $20\ t\ ha^{-1}$ de esterco bovino (E20).

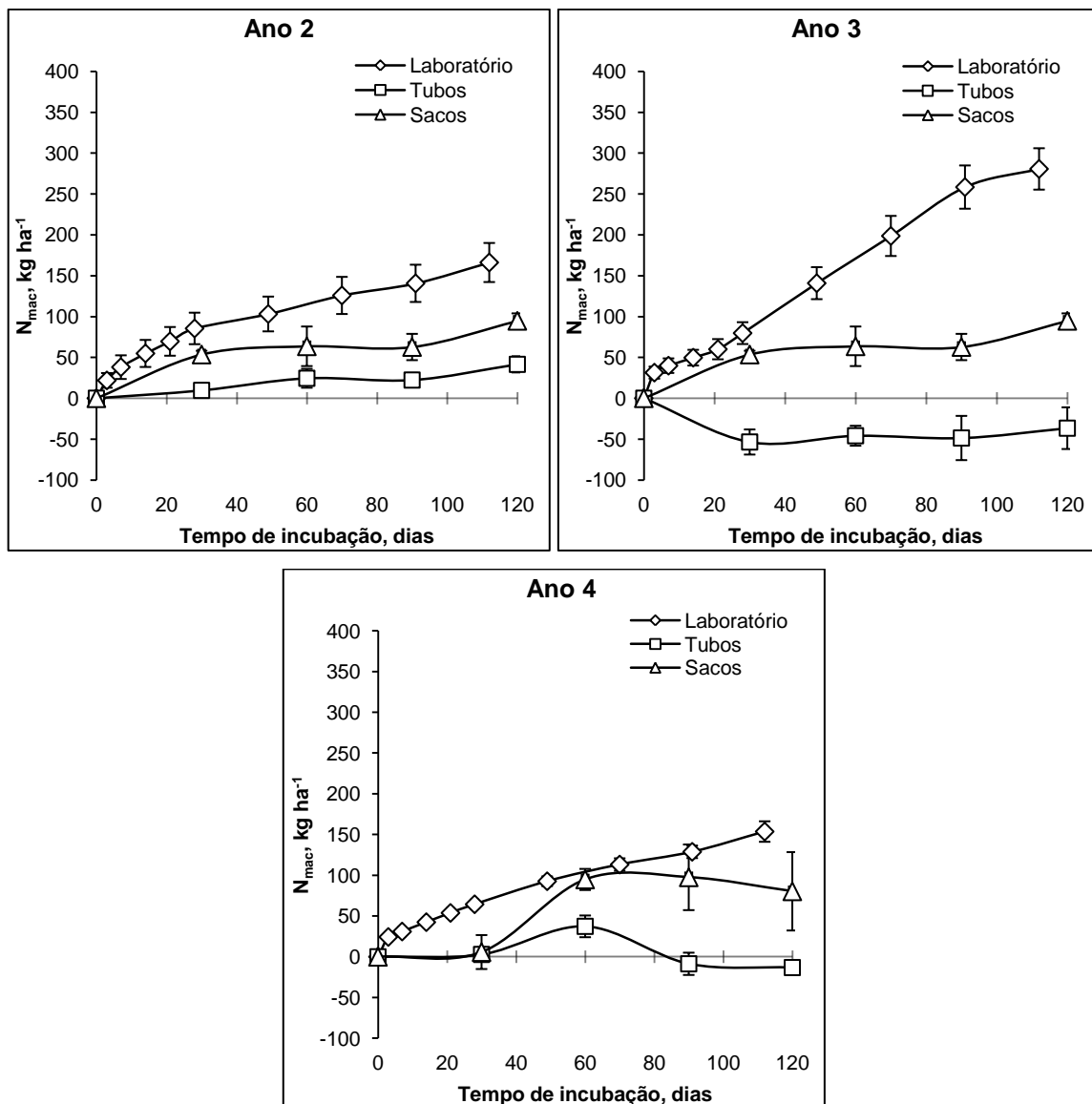


Figura 11. Nitrogênio mineralizado acumulado (N_{mac}) avaliado pelo método de incubação em laboratório, tubos com resinas trocadoras de íons e sacos de polietileno enterrados, no tratamento com aplicação de $30\ t\ ha^{-1}$ de esterco bovino (E30).

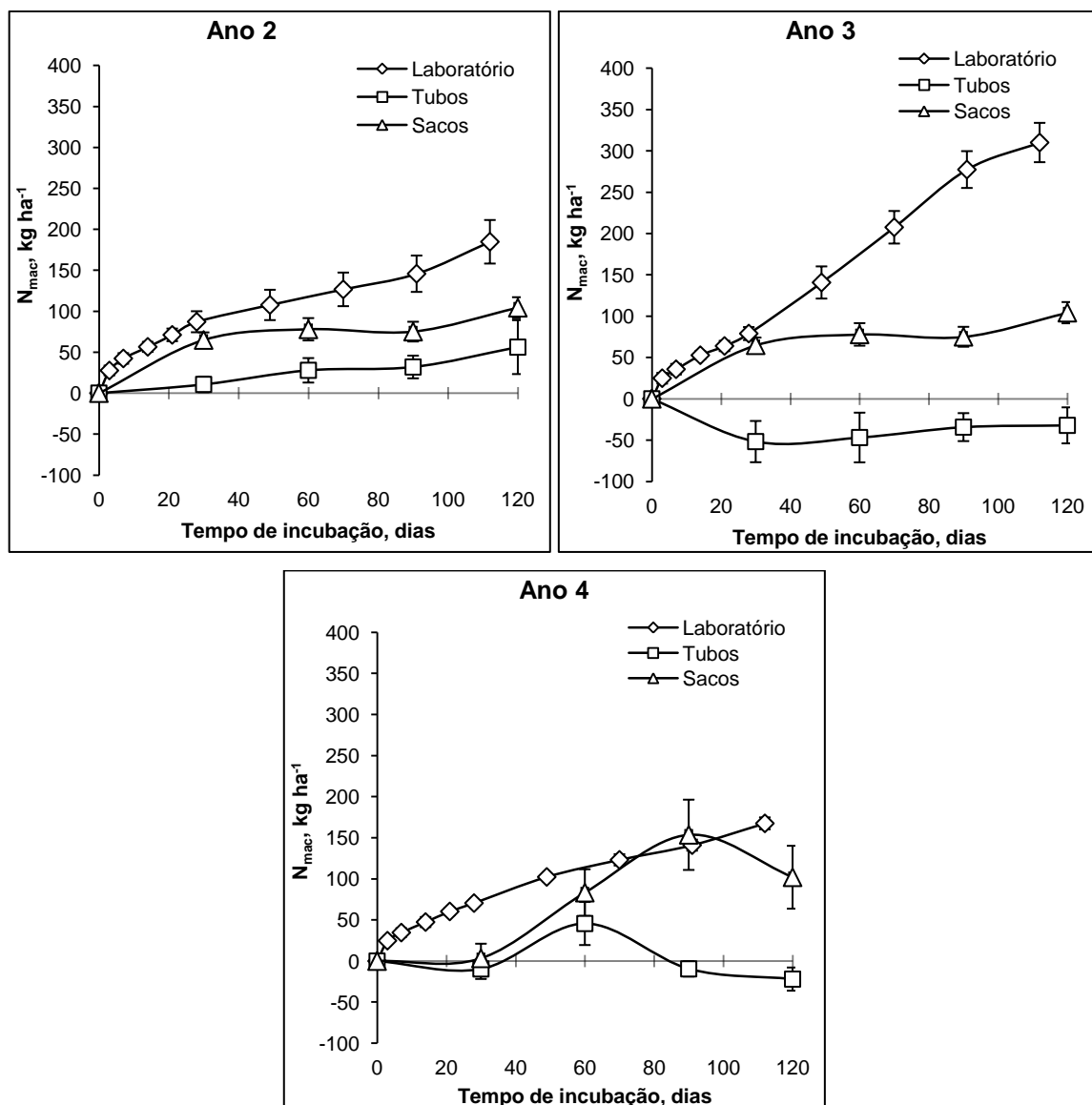


Figura 12. Nitrogênio mineralizado acumulado (N_{mac}) avaliado pelos métodos de incubação em laboratório, tubos com resinas trocadoras de íons e sacos de polietileno enterrados, no tratamento com aplicação de $40\ t\ ha^{-1}$ de esterco bovino (E40).

Tabela 3. Nitrogênio mineralizado acumulado (N_{mac}) determinado em amostras de solo submetidas à incubação em laboratório e em campo (métodos dos sacos de polietileno enterrados e dos tubos com resina) e parâmetros da equação exponencial de cinética de primeira ordem ajustada aos dados de laboratório (estimativa de N potencialmente mineralizável, N_0 , e constante de mineralização, k).

Ano	Dose de esterco t ha ⁻¹	N mineralizado acumulado			N_0^1	k ¹ dia ⁻¹
		Laboratório	Sacos enterrados	Tubos com resina		
		----- kg ha ⁻¹ -----				
2011/2012	0	271	38	51	250	0,04
	20	297	52	49	-	-
2012/2013	0	147	58	36	152	0,02
	10	163	77	39	147	0,03
	20	163	87	39	161	0,03
	30	166	95	41	161	0,03
	40	185	104	56	178	0,02
2013/2014	0	182	58	-3	207	0,02
	10	223	41	-11	-	-
	20	249	87	-9	-	-
	30	281	95	-37	-	-
	40	310	104	-32	-	-
2014/2015	0	119	19	-8	120	0,02
	10	152	62	-6	151	0,02
	20	152	75	-8	162	0,02
	30	154	80	-13	167	0,02
	40	168	102	-22	179	0,02

¹ Parâmetros obtidos com o ajuste de N_{mac} determinado em laboratório.

Os dados de N_{mac} (Tabela 3) foram usados no ajuste ao modelo exponencial de cinética de primeira ordem (STANFORD; SMITH, 1972). O ajuste ao modelo só ocorreu com os dados de laboratório, e este não foi eficiente para representar o comportamento da mineralização de N nos anos em que foi feita aplicação do esterco (2011/2012 e 2013/2014). Nas situações em que houve ajuste, os valores de N potencialmente mineralizável (N_0), obtido por cálculo empregando modelo exponencial de primeira ordem, variaram de 120 a 250 kg ha⁻¹ de N. Embora a comparação dos valores calculados de N_0 em relação aos obtidos na literatura seja difícil devido às variações nas condições experimentais, tem-se, na literatura, maior amplitude de valores em comparação aos apresentados na Tabela 3. Os valores relatados por Sbih, N'Dayegamiye e Karam (2003), utilizando 34 solos que

receberam aplicação de esterco, foi de 169 a 621 kg ha⁻¹ de N em 56 semanas de incubação a 25°C. Thomas et al. (2015), utilizando esterco bovino líquido aplicado em solo de textura média, obtiveram 595 kg ha⁻¹ de N em 48 semanas com incubação a 25°C. Ainda, Simard e N'Dayegamiye (1993) determinaram, em 20 solos do Canadá, de 335 a 2.855 kg ha⁻¹ de N em incubação por 55 semanas a 20°C. Todos os valores apresentados foram obtidos de transformação dos dados dos autores assumindo densidade dos solos igual a 1,3 kg dm⁻³ e os valores maiores de N₀ em relação aos obtidos podem ser atribuídos, em parte, ao maior período de incubação em relação ao utilizado neste trabalho.

A taxa de mineralização obtida em laboratório, expressa através do parâmetro k (quanto maior o valor de k, mais rápida é a mineralização) mostrou tendência da mineralização de N dos tratamentos com esterco ser mais lenta comparada ao tratamento controle (Tabela 3). A diminuição no valor de k e o aumento no N₀, observado no ano 4 no tratamento com 40 t ha⁻¹ comparado ao tratamento controle (Tabela 3), caracteriza que os tratamentos com esterco apresentam altas concentrações de substratos com alta resistência e menores taxas de decomposição. Mikha, Rice e Benjamin (2006) obtiveram resultados semelhantes: diminuição no valor de k e aumento no N₀ em solo tratado com esterco bovino, devido às características do esterco como teor alto de hemicelulose, celulose e lignina, que resultam em menor taxa de decomposição.

O ajuste do modelo exponencial de primeira ordem aos valores de N mineralizado acumulado em laboratório apresentou, de maneira geral, boa acurácia e alta precisão para todos os tratamentos (Figuras 13 e 14). Entretanto, foi observada pequena subestimação da mineralização do N no início e no fim do período de incubação, e superestimação no período intermediário, para todos os tratamentos (Figuras 13 e 14). Resultado semelhante foi observado por Bonde e Rosswall (1987) em amostras de solos cultivados por 10 anos. Em outras situações também foram obtidas estimativas de N potencialmente disponível superestimadas quando aplicado o modelo exponencial simples (VERSTRAETE; VOETS, 1976; GRIFFIN; LAINE, 1983; CABRERA; KISSEL, 1988; MIKHA et al., 2006).

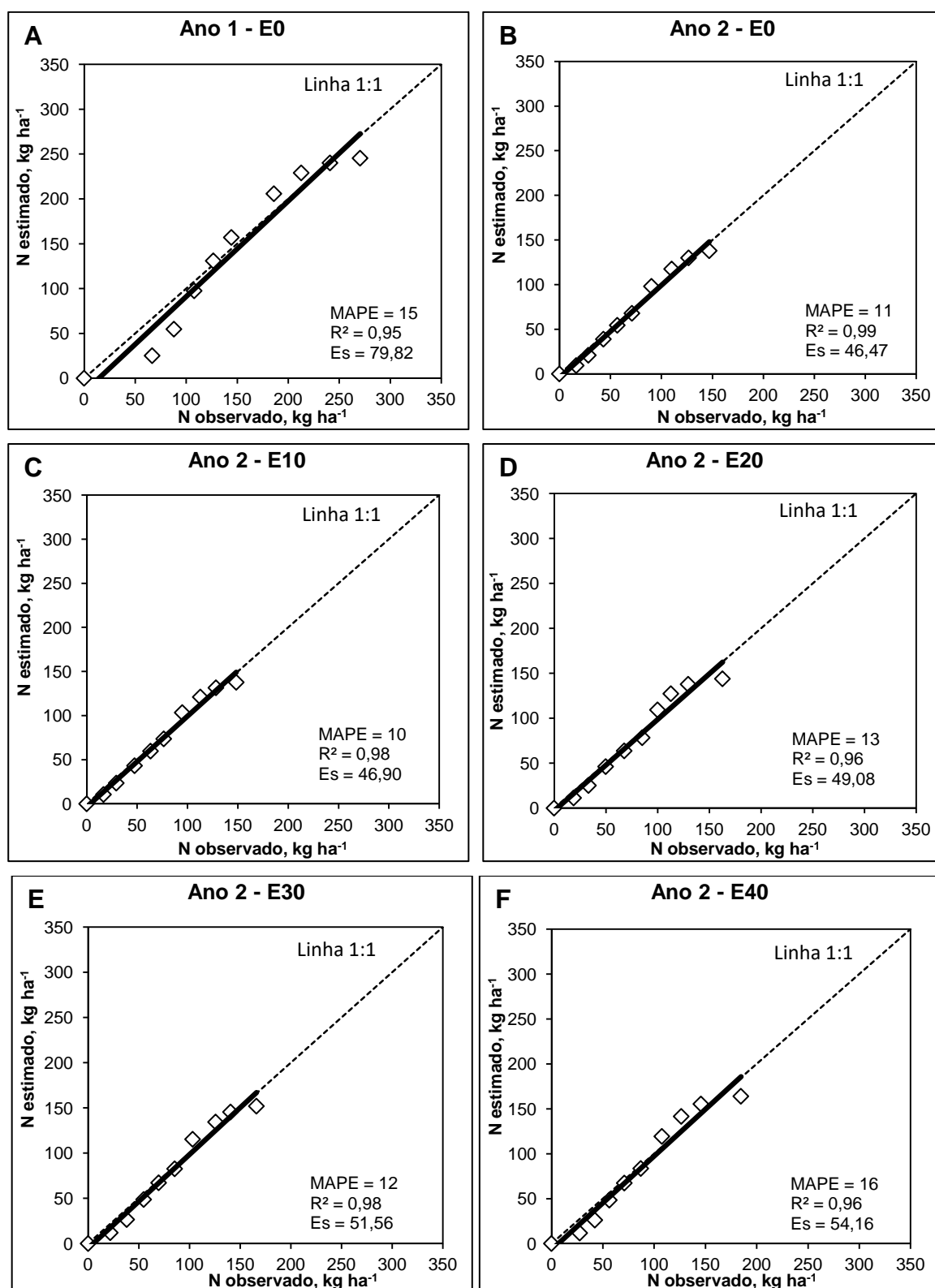


Figura 13. Relação entre N estimado e N observado. A: Tratamento controle (E0) no ano de 2011/2012; B: Tratamento controle (E0) no ano 2012/2013; C, D, E e F: Aplicação de 10, 20, 30 e 40 t ha⁻¹ de esterco, respectivamente no ano de 2012/2013. MAPE = erro percentual absoluto médio; R² = coeficiente de determinação; Es = erro sistemático.

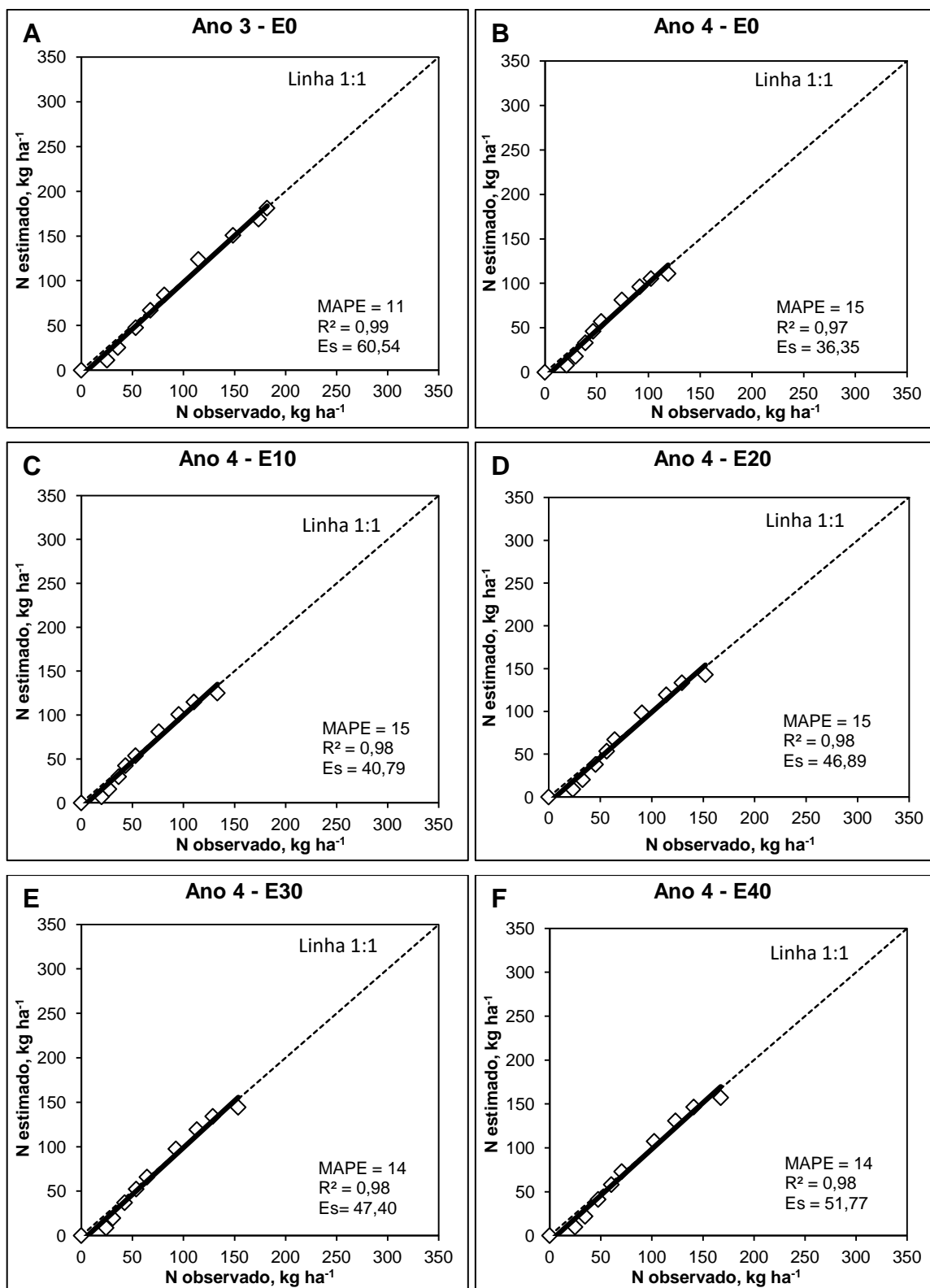


Figura 14. Relação entre N estimado e N observado. A: Tratamento controle (E0) no ano de 2013/2014; B: Tratamento controle (E0) no ano 2014/2015; C, D, E e F: Residual de 10, 20, 30 e 40 t ha⁻¹ de esterco, respectivamente, no ano de 2014/2015. MAPE = erro percentual absoluto médio; R² = coeficiente de determinação; Es = erro sistemático.

Para os casos em que não houve ajuste ao modelo de cinética de primeira ordem, o N_{mac} obtido em laboratório foi ajustado ao modelo linear (Tabela 4). O modelo exponencial de primeira ordem é usado frequentemente para descrever a mineralização do N em função do manejo do solo, de culturas e de condições climáticas (HATCH et al., 2000; HANSELMAN; GRAETZ; OBREZA, 2004; MIKHA; RICE; BENJAMIN, 2006; THOMAS et al., 2015). Contudo, em muitos estudos com adubos orgânicos está relatada a inadequação do modelo para estimar o N_0 . Lindemann e Cardenas (1984) também verificaram que o modelo foi pouco eficaz para descrever a mineralização de N em solos tratados com lodo de esgoto. Em trabalho realizado por Pereira et al. (2009) foi feita comparação de três modelos não lineares para predição do N mineralizado, e também foi observado que o modelo exponencial simples não apresentou o melhor ajuste aos dados de mineralização de N. Avaliando o ajuste do modelo exponencial de primeira ordem, Cabrera e Kissel (1988) verificaram superestimação do modelo de 67 a 343 %, que foi atribuída à umidade constante do solo e ao preparo das amostra para incubação. Simard e N'Dayegamiye (1993) verificaram que o modelo exponencial de primeira ordem foi inadequado para descrever a mineralização de N em solos do Canadá e verificaram que o N_{mac} foi menor no início seguido de maior mineralização e decréscimo, descrevendo modelo sigmoidal.

Tabela 4. Ajuste dos dados de nitrogênio mineralizado acumulado (N_{mac}) em amostras de solo submetidas à incubação aeróbica em laboratório, equações de regressão para efeito das doses de esterco bovino (x em $kg\ ha^{-1}$) nos valores de N_{mac} .

Ano ¹	Dose de esterco $t\ ha^{-1}$	Equação	R ²	F ²
2011/2012	20	$\hat{y}=2,01x+67,21$	0,98	441,25**
	10	$\hat{y}=1,86x+32,13$	0,98	515,14**
2013/2014	20	$\hat{y}=2,11x+25,33$	0,99	1.285,24**
	30	$\hat{y}=2,44x+20,16$	0,99	840,50**
	40	$\hat{y}=2,69x+16,22$	0,99	920,90**

¹ Estão contemplados na tabela apenas os anos em que não foi obtido ajuste à equação cinética de primeira ordem; ² **, *, ns: significativo a 1, 5% e não significativo, respectivamente.

A incorporação do esterco ao solo resultou em aumento nas quantidades de N_{mac} (soma de NH_4^+ + NO_3^-) em condições aeróbicas no período de 120 dias (Tabela 3). Ocorreu aumento do N_{mac} com as doses de esterco em todos os anos. No tratamento controle, a maior quantidade de N_{mac} foi obtida no ano 1 (270 kg ha^{-1}) e a menor, no ano 4 (119 kg ha^{-1}) (Tabela 3), indicando diminuição das reservas de N do solo de mais fácil mineralização (N lábil). Considerando as quantidades de N_{mac} obtidas no ano 3, com reaplicação do esterco, observa-se que as quantidades de N_{mac} variaram, em média, de 223 a 310 kg ha^{-1} de N. Se comparadas com as quantidades de N absorvidas pelo milho, Tabela 6, neste mesmo ano (51 a 109 kg ha^{-1} de N) a avaliação em laboratório superestimou o potencial de fornecimento de N pelo esterco, neste ano em particular, porque houve déficit hídrico acentuado (Figura 1B). A precipitação acumulada durante as safras (duração de 4 meses) de 2011/2012, 2012/2013, 2013/2014 e 2014/2015 foram de 934, 901, 533 e 789 mm, respectivamente (Tabela 1). Comparando a média de precipitação em cada safra com a média dos últimos 43 anos (876 mm), a precipitação nas safras de 2011/2012, 2012/2013 e 2014/2015 ficou dentro da expectativa normal dos últimos 43 anos. De modo oposto, a precipitação de 2013/2014 foi 43% menor do que a de 2011/2012 e 39% menor do que a média dos últimos 43 anos para os meses de novembro a abril. Desta maneira, é possível afirmar que a estiagem no ano agrícola 2013/2014 influenciou os resultados observados de N mineralizado no campo.

Com o método dos sacos enterrados, as quantidades de N mineralizado acumulado diminuíram em várias situações, incluindo doses de esterco e anos de avaliação. Como neste método o N mineralizado acumula na amostra, este comportamento não era esperado. No ano 4 observou-se diminuição a partir de 60 a 90 dias (Figuras 8 a 12). Este resultado indica que pode ter havido redução do N-NO_3^- a N_2O e N_2 no processo de desnitrificação e perda para o meio externo. O processo de desnitrificação pode ter ocorrido desde o início do período de incubação, mas com o aumento do tempo de incubação e a ocorrência de condições mais adversas dentro do saco, ele pode ter se intensificado no final. A desnitrificação no interior dos sacos enterrados pode ter ocorrido tendo em vista que a permeabilidade do polietileno ao CO_2 é quatro vezes maior do que ao O_2 (RENFREW; MORGAN, 1957, citados por ENO, 1960). Logo, o consumo de O_2

possivelmente foi mais intenso do que as trocas gasosas ocorridas no interior dos sacos enterrados. Abril, Caucas e Bucher (2001) também relataram que o método dos sacos de polietileno enterrados subestima a mineralização do N devido ao consumo de O_2 pelos microrganismos, resultando em menor mineralização, como foi observado neste trabalho ao comparar método dos sacos ao método de incubação no laboratório. As bactérias responsáveis pelo processo de desnitrificação são anaeróbicas facultativas, e sua atividade depende da temperatura e do grau de oxigenação do solo. Somado a este fator, a distribuição da água no solo dentro dos sacos de polietileno é mais um aspecto que pode ter favorecer a desnitrificação. Nos sacos enterrados, com o tempo, pode haver maior umidade no solo que está em contato com as paredes. Sabendo que o movimento do O_2 é frequentemente impedido pela água nos espaços porosos do solo, uma vez que ele difunde cerca 10.000 vezes mais lentamente em água do que em ar (ADDISCOTT, 2005), é possível admitir que a desnitrificação ocorreu por limitação de entrada de O_2 e de saída de CO_2 , apesar da umidade inicial da amostra ter sido fixada em 60% de poros cheios de água.

A diminuição do N_{mac} no final da incubação em sacos enterrados pode também ser atribuída a microrregiões anaeróbicas dentro de um sistema aerado. Monaco et al. (2010) atribuíram a baixa mineralização determinada pelo método dos sacos de polietileno enterrado à desnitrificação, uma vez que a atividade microbiana foi limitada pela falta de oxigênio. Fellman e D'Amore (2007) determinaram maiores quantidades de N e P mineralizadas em condições de incubação em laboratório do que em incubação *in situ* em sacos de polietileno, possivelmente devido a troca gasosa mais limitada dentro dos sacos comparada com incubação em laboratório. Os mesmos autores afirmam que áreas com baixa oxigenação podem ocorrer onde exista alta demanda por oxigênio, porque a taxa de difusão não é capaz de suprir o consumo, o que acarreta alta variabilidade na taxa de desnitrificação mesmo em pequenos volumes de solo. Ainda, os processos de mineralização, imobilização, nitrificação e desnitrificação podem ocorrer simultaneamente em curtas distâncias e, deste modo processos aeróbicos e anaeróbicos podem ocorrer lado a lado (ADDISCOTT, 2005).

No presente trabalho não foram observados danos mecânicos nos sacos enterrados, como perfurações por insetos ou raízes, nem defeitos no fecho zip-lock, que foram mencionados por Sylvestre (2013) como fatores responsáveis pela diminuição no N_{mac} no final de períodos de incubação mais longos, acima de 85 a 100 dias.

As quantidades de N_{mac} obtidas com o método dos tubos com resinas foram menores quando comparadas às quantidades de N_{mac} determinadas pelos métodos de incubação em laboratório e sacos enterrados (Tabela 3). Isto pode ter ocorrido possivelmente devido a: diminuição do processo de mineralização no solo do tubo devido às condições de umedecimento/secamento, e perdas de N-mineral pela diminuição da capacidade de retenção de N na resina ou por desnitrificação do NO_3^- do solo do tubo.

A medida da mineralização nas condições de umedecimento/secamento do solo no campo é inerente ao método dos tubos e é considerada uma vantagem em relação aos demais métodos. Considerando que a umidade regula a difusão de oxigênio no solo e a máxima atividade microbiana ocorre entre 60 e 80% da capacidade de retenção de água (GUNTIÑAS et al., 2012), se o método for sensível a estas variações deve haver aumento na eficiência para estimar a taxa de mineralização de N. No entanto, como as variações geram muita variabilidade nos dados, é mais difícil usar modelos que permitam prever a mineralização. Usando três métodos de incubação *in situ* (sacos enterrados, tubos cobertos e tubos abertos com resina), Isaac e Timer (2006) concluíram que o método dos tubos com resina é o que apresenta maior variabilidade por causa das flutuações na temperatura e na umidade, o que explica os resultados obtidos no presente trabalho. Ainda, a menor mineralização em relação aos métodos em que a umidade foi mantida constante, contraria a afirmação de vários autores, para os quais há estímulo ao processo de mineralização quando a umidade do solo varia (FIERE; SCHIMEL, 2003; AGEHARA; WARNCKE, 2005; XIANG et al., 2008). Também contraria o que foi obtido por Mikha, Rice e Benjamin (2006), que não verificaram mudanças ou decréscimo na mineralização comparando amostras submetidas a ciclos de umedecimento/secamento em relação a amostras mantidas com umidade constante.

A quantidade de N_{mac} determinada com o uso do método dos tubos abertos com resina apresentou, em muitas situações, valores negativos (Tabela 3). Isto pode ter ocorrido devido a perda de capacidade de adsorção de N pela resina. Nos anos 2013/2014 e 2014/2015 houve períodos longos de estiagem e distribuição irregular das chuvas (Figura 1B). No ano 4, por exemplo, nos intervalos de 0-30 dias, 30-60 dias e 90-120 dias o percentual de precipitação em relação ao total obtido nos 120 dias foi de, respectivamente, 25%, 11% e 64%. Nestas condições, na primeira avaliação, aos 30 dias de incubação, foram determinadas baixas concentrações de N na resina (menos de 1 kg ha^{-1}). Na amostragem seguinte (60 dias) foram observados aumentos de N-mineral e posterior diminuição. A diminuição pode significar que houve perda de N por lixiviação, se a resina secou, ou por desnitrificação, se o solo passou por períodos de encharcamento. Os dois processos podem, também, ter ocorrido simultaneamente. Foi constatada, por diversos autores utilizando solos de textura argilosa, perda de N por denitrificação em condições de umidade alta (HOOK; BURKE, 1995; HATCH et al., 2000; ABRIL; CAUCAS; BUCHER, 2001; HANSELMAN; GRAETZ; OBREZA, 2004). Baixa retenção de N mineral em resinas trocadoras de íons foi relatada por Hanselman, Graetz e Obreza (2004) e Wienhold, Varvel e Wilhelm (2009). Por outro lado, Brye et al. (2002) não identificaram problema utilizando tubos com resinas trocadoras íons.

Com aplicação de 20 t ha^{-1} de esterco, a quantidade de N orgânico mineralizado no primeiro ano foi de aproximadamente 26 kg ha^{-1} de N (12%) e 14 kg ha^{-1} de N (6%), determinadas com os métodos de laboratório e sacos enterrados, respectivamente. Não foi possível fazer o cálculo com os dados dos tubos, uma vez que aos 120 dias de incubação a quantidade determinada no solo com esterco foi menor do que a do solo sem esterco. No ano 2013/2014 foram obtidos, no laboratório, 41, 67, 99 e 128 kg ha^{-1} de N, com as aplicações de 10, 20, 30 e 40 t ha^{-1} , respectivamente. Com base nas doses aplicadas e nas concentrações de N dos esterco (Tabela 2), as taxas de mineralização foram de 29%, 24%, 24% e 23%. Usando o método dos sacos, a fração de mineralização do esterco bovino determinada em campo, no ano 2013/2014, foi 10, 9 e 8% com aplicação de 20, 30 e 40 t ha^{-1} de esterco, respectivamente. Não foi possível fazer o cálculo com os dados do método dos tubos neste ano. Todos os valores calculados estão abaixo da

expectativa, uma vez que se admite que 35 a 40% do N adicionado através do esterco são liberados no primeiro ano (LABOSKI et al., 2006).

4.3. Comportamento dos métodos de incubação e relação com o crescimento e absorção de N pelo milho

Um aspecto importante no desenvolvimento e validação de métodos de avaliação da mineralização do N é a resposta da cultura, uma vez que o N é o nutriente mais absorvido e acumulado pela maioria das plantas e está muito relacionado à produção de biomassa. O N absorvido pelas plantas de milho e acumulado na matéria seca aos 30, 60, 90 e 120 dias de incubação está na Tabela 5. O esterco bovino proporcionou aumento linear no N_{abs} na parte aérea de plantas de milho, na produção de matéria seca da parte aérea e na produtividade de grãos (Tabela 6).

Tabela 5. Marcha de absorção de nitrogênio (N_{abs}) pela parte aérea de plantas de milho em função de doses de esterco bovino, em quatro anos de avaliação.

Ano	Dose de esterco	Dias após a semeadura			
		30	60	90	120
		————— N_{abs} (kg ha ⁻¹)—————			
2011/2012	0	4	74	111	159
	20	4	98	112	150
2012/2013	0	4	19	24	30
	10	5	17	24	23
	20	6	20	42	41
	30	7	39	44	65
	40	9	38	55	67
2013/2014	0	2	22	29	51
	10	3	36	62	48
	20	4	52	64	81
	30	5	67	75	94
	40	4	90	118	109
2014/2015	0	4	23	54	49
	10	8	38	57	67
	20	9	47	88	105
	30	12	59	111	128
	40	11	74	136	155

Tabela 6. Produtividade, matéria seca (MSPA) e N acumulado (N_{abs}) na parte aérea de plantas de milho.

Ano	Dose de esterco ($t\ ha^{-1}$)					Equação	r^2	F
	0	10	20	30	40			
MSPA ($kg\ ha^{-1}$)								
2012/2013	4506	4439	7023	9549	10314	$\hat{y}=167,26x+3820,70$	0,93	11,23**
2013/2014	8235	8181	11401	12731	14305	$\hat{y}=166,89x+7632,60$	0,94	11,60**
2014/2015	5434	7862	10144	11992	12412	$\hat{y}=180,86x+5951,60$	0,95	12,01**
N_{abs} ($kg\ ha^{-1}$)								
2012/2013	30,3	23,4	40,8	65,0	67,3	$\hat{y}=1,15x+22,25$	0,84	3,98*
2013/2014	50,7	47,8	81,4	94,3	108,8	$\hat{y}=1,67x+44,06$	0,92	11,29**
2014/2015	49,2	66,5	105,2	127,9	155,3	$\hat{y}=2,73x+46,11$	0,99	26,00**
Produtividade de grãos ($t\ ha^{-1}$)								
2011/2012	7,5	7,9	9,2	10,0	10,9	$\hat{y}=0,09x+7,34$	0,98	8,16**
2012/2013	2,3	2,2	3,1	4,4	4,1	$\hat{y}=0,06x+2,10$	0,82	3,25*
2013/2014	2,2	2,5	3,9	4,7	5,9	$\hat{y}=0,10x+1,91$	0,97	4,59*
2014/2015	3,7	3,4	6,4	6,6	7,9	$\hat{y}=0,12x+3,27$	0,87	30,53**

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

A produtividade de grãos de milho, na dose de $40\ t\ ha^{-1}$, nas safras 2012/2013, 2013/2014 e 2014/2015 foi, em média, 45% menor do que a da safra de 2011/2012 (Tabela 6). Isto pode ser explicado pela baixa precipitação pluvial acumulada durante os meses de condução do experimento (Tabela 1), e pela distribuição irregular das chuvas nas safras 2012/2013, 2013/2014 e 2014/2015, particularmente na safra 2013/2014 (533 mm), em que houve reaplicação do esterco e seria esperada maior resposta. As restrições causadas pela baixa precipitação pluvial, menor do que 600 mm (43% menor do que na safra 2011/2012), e a distribuição irregular, principalmente no florescimento, podem resultar em redução de até 50% da produtividade do milho, o que explicaria a baixa produtividade de grãos observada (MAGALHÃES; DURÃES, 2006).

Os dados de MSPA, N_{abs} e produtividade foram usados nos cálculos de correlação com o N mineralizado obtido com os métodos de incubação de solo em laboratório e no campo. As correlações foram calculadas separando o tratamento controle (N_{mac} do solo) dos tratamentos com doses de esterco (N_{mac} do solo + esterco) e estão nas Tabelas 7 e 8, respectivamente.

O N mineralizado do solo obtido com incubação aeróbica em laboratório apresentou correlação positiva com a MSPA (0,79**) e com o N_{abs} (0,77**). Quando as correlações são calculadas na condição sem aplicação de adubos orgânicos, em que o N mineralizado é proveniente apenas da MOS, os valores de r são, de modo geral, significativos (CAMARGO et al., 1997; YAGI et al., 2009) e, no presente caso, explicaram 79% da variação na MSPA e 77% do N absorvido por plantas de milho

Com os métodos de campo também foram observadas correlações significativas entre o N mineralizado do solo obtido pelo método dos tubos com resina trocadora de íons e a MSPA (0,31*) e o N_{abs} pelas plantas de milho (0,41**). Contudo, com o método dos sacos de polietileno enterrados não foram obtidas correlações com MSPA e N_{abs} .

A ausência de correlação ou os baixos coeficientes de correlação entre o N mineralizado determinado pelos métodos de campo e a produção de MSPA e o N_{abs} pelas plantas de milho pode ser resultado da característica da não linearidade da curva obtida para N_{mac} e também da diminuição do N_{mac} a partir de 60 ou 90 dias, dependendo do ano, obtida com os métodos de campo (Tabela 3 e Figuras 8 a 12). A MSPA e o N_{abs} , de maneira geral, aumentam obedecendo a um comportamento linear ou quadrático. Portanto, se assemelham mais com as curvas de N mineralizado acumulado obtidas pelo método de incubação em laboratório.

Tabela 7. Coeficientes de correlação (r) entre nitrogênio mineralizado obtido através dos métodos de incubação em laboratório, em sacos de polietileno enterrados e em tubos com resina trocadoras de íons, matéria seca da parte aérea (MSPA), N absorvido (N_{abs}) na MSPA de plantas de milho no tratamento sem aplicação de esterco.

	Laboratório	Tubos	Sacos	MSPA	N_{abs}
Laboratório	—	0,47*	0,15 ^{ns}	0,79**	0,77**
Tubos	—	—	0,07 ^{ns}	0,31*	0,41**
Sacos	—	—	—	0,00 ^{ns}	0,09 ^{ns}

** , * e ^{ns}: significativo a 1 e a 5%, e não significativo, respectivamente.

Houve também correlações significativas e positivas entre as quantidades de N_{mac} do solo + esterco obtidas em laboratório com MSPA e N_{abs} (Tabela 8), o que é um indicativo de que o método do laboratório representa bem a disponibilidade de N

para milho em áreas adubadas com esterco bovino. Com este resultado admite-se que, apesar das dificuldades na estimativa do N mineralizável dos resíduos orgânicos, a determinação da taxa de mineralização em laboratório, juntamente com outras variáveis, pode permitir a contabilização desta fonte de N na recomendação de adubação. Como vantagens da estimativa do N mineralizado têm-se a racionalização do uso dos adubos orgânicos, o equilíbrio no fornecimento de N e a preservação da qualidade do solo e das águas.

Tabela 7. Coeficientes de correlação (r) entre nitrogênio mineralizado obtido através dos métodos de incubação em laboratório, sacos de polietileno enterrados e tubos com resina trocadoras de íons, matéria seca da parte aérea (MSPA), N acumulado (N_{abs}) na MSPA de plantas de milho nos tratamentos que receberam aplicação de esterco.

	Laboratório	Tubos	Sacos	MSPA	N_{abs}
Laboratório	—	0,19 ^{ns}	0,56 ^{**}	0,85 ^{**}	0,62 ^{**}
Tubos	—	—	0,00 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,04 ^{ns}
Sacos	—	—	—	0,66 ^{**}	0,65 ^{**}

** , * e ^{ns}: significativo a 1 e a 5%, e não significativo, respectivamente.

O N mineralizado determinado pelo método dos sacos enterrados correlacionou-se fracamente com o N mineralizado obtido pelo método de laboratório, com a produção de MSPA e N_{abs} e com o método dos tubos com resina, nenhuma correlação foi significativa (Tabelas 7 e 8).

Usando apenas os dados de N mineralizado acumulado em 120 dias de incubação foram obtidas correlações entre o N_{mac} determinado em laboratório e a MSPA, o N_{abs} e a produtividade (Tabela 9), mas os valores de r foram menores do que os obtidos com o conjunto dos dados (Tabela 7). Os resultados obtidos com os sacos enterrados e os tubos com resina, como nas demais situações, não foram bons, com coeficientes de correlação muito baixos ou não significativos em todas as situações.

Tabela 8. Coeficientes de correlação (r) entre nitrogênio mineralizado obtido através dos métodos de incubação em laboratório, em sacos de polietileno enterrados e em tubos com resina trocadoras de íons, matéria seca da parte aérea (MSPA), N acumulado (N_{abs}) na MSPA de plantas de milho aos 120 dias e produtividade.

	Laboratório	Tubos	Sacos	MSPA	N_{abs}	Prod.
Laboratório	—	0,16 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,73 ^{**}	0,49 ^{**}	0,40 ^{**}
Tubos	—	—	0,10 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,03 ^{ns}
Sacos	—	—	—	0,10 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,25 [*]

^{**}, ^{*} e ^{ns}: significativo a 1 e a 5%, e não significativo, respectivamente.

Os resultados obtidos contrariam a expectativa de se ter melhor representação da mineralização de N com medidas feitas no campo, nas condições ambientais reais, e confirma a afirmação de Wienhold (2007), de que os métodos de incubação em laboratório frequentemente apresentam correlações fracas com o N mineralizado no campo devido o método ser conduzido sob condições de temperatura e umidade controladas.

5 CONCLUSÕES

O N mineralizado acumulado determinado em laboratório explicou 77% do N absorvido por plantas de milho sem adubação com esterco bovino e 62% do N absorvido por plantas de milho adubadas com esterco bovino.

O N mineralizado acumulado determinado no campo com sacos enterrados e tubos abertos com resina não explicou a produção de matéria seca da parte aérea e o N absorvido pelas plantas de milho.

O método de incubação aeróbica em laboratório permitiu obter melhor índice de disponibilidade de N do que os métodos de incubação em campo.

6 REFERÊNCIAS

ABRIL, A.; CAUCAS, V.; BUCHER, E.H. Reliability of the *in situ* incubation methods used to assess nitrogen mineralization: a microbiological perspective. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.17, p.125-130, 2001.

ADAMS, M.A.; ATTIWILL, P.M. Nutrient cycling and nitrogen mineralization in eucalypt forest of south-eastern Australia. II. Indices of nitrogen mineralization. **Plant and Soil**, The Hague, v.92, p.341-362, 1986.

ADDISCOTT, T.M. The biology of nitrate. In:_____. (Ed.). **Nitrate, Agriculture and the environment**. London: CABI, 2005. cap. 3, p. 29-47.

AGEHARA, S.; WARNCKE, D.D. Soil Moisture and Temperature Effects on Nitrogen Release from Organic Nitrogen Sources. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.69, p.1844-1855 2005.

BATJES, N.H. Total carbon and nitrogen in the soils of the world. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v.65, p10-21, 2014.

BINKLEY, D.; HART, S.C. The components of nitrogen availability assessment in forest soils. **Advances in Soil Science**, v.10, p.57-112, 1989.

BONDE, T.A.; ROSSWALL, T. Seasonal Variation of Potentially Mineralizable Nitrogen in Four Cropping Systems., **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.51, p.1508-1514, 1987.

BROADBENT, F.E.; CARLTON, A.B. Field trials with isotopically labeled nitrogen fertilizer. **Nitrogen in the Environment**, v. 1, p. 1-41, 1978.

BRYE, K.R.; GOWER, S.T.; NORMAN, J.M.; BUNDY, L.G. Carbon budgets for a prairie and agroecosystems: Effects of land use and interannual variability. **Ecological Applications**, Tempe, v. 12, p. 962–979, 2002.

CABRERA, M.L. Modeling the flush of nitrogen mineralization caused by drying and rewetting soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.57, p.63-66, 1993.

CABRERA, M.L.; KISSEL, D.E. Evaluation of a method to predict nitrogen mineralised from soil organic matter under field conditions, **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.52, p.1010-1015, 1988.

CALDERÓN, F J; MCCARTY, G.W.; VAN KESSEL, J.A.S.; REEVES, J.B. Carbon and nitrogen dynamics during incubation of manured soil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.68, p.1592-1599, 2004.

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

CAMARGO, F. A. O.; GIANELLO, C.; VIDOR, C. Potencial de mineralização do nitrogênio em solos do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 21, p.575-579, 1997.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V.; V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (eds.) **Fertilidade do solo**. Viçosa: SBCS, 2007. p.375-470.

CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van. Milho para grãos e silagem. In: RAIJ, B. van, CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (eds.) **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas, Instituto Agronômico; Fundação IAC, 1996. p.56-59. (Boletim técnico, 100)

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

CARMO, C.A.F.S.; ARAÚJO, W.S.; BERNARDI, A.C.C.; SALDANHA, M.F.C. **Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na Embrapa Solos**. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2000. 41p. (Circular técnica, 6)

CETESB. Aplicações de lodos de sistema de tratamento biológico em áreas agrícolas – **Critérios para projetos e operações**. São Paulo: Cetesb, 1999. 32p. (Norma P4.230)

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS – CFSEMG. Adubação orgânica. In: RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ

V., V.H. (eds.) **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. Viçosa: CFSEMG, 1999. p.87-92.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução Conama n. 375, de 29 de agosto de 2006. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 ago. 2006. Seção 1, p.141-146.

CORDOVIL, C.M.; COUTINHO, J.; GROSS, M.; CABRAL, F. Potentially mineralizable nitrogen from organic materials applied to a sandy soil: fitting the one pool exponential model. **Soil Use and Management**, Oxford, v.21, p.65-72, 2005.

DURÁN, J.; MORSE, J.L.; GROFFMAN, P.M. Comparison of *in situ* methods to measure N mineralization rates in forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v.46, p.145-147, 2012.

EGHBALL, B. Nitrogen mineralization from field-applied beef cattle feedlot manure or compost. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.64, p.2024-2030, 2000.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. Embrapa Solos: Rio de Janeiro, 2013. 306p.

ENO, C.F. Nitrate production in the field by incubating the soil in polyethylene bags. **Soil Science Society of American Proceedings**, Madison, v.24, p.277-279, 1960.

FELLMAN, J.B.; D'AMORE, D.V. Nitrogen and phosphorus mineralization in three wetland types in southeast Alaska. **Wetlands**, Madison, v.12, p.44-53, 2007.

FIERER, N.; SCHIMEL, J.P. A proposed mechanism for the pulse in carbon dioxide production commonly observed following the rapid rewetting of a dry soil. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.67, p.798-805, 2003.

GALLOWAY, J.N.; ABER, J.D.; ERISMAN, J.W.; SEITZINGER, S.P.; HOWARTH, R.W.; COWLING, E.B.; COSBY, B.J. The nitrogen cascade. **BioScience**, Washington, v.53, p.341-356, 2003.

GOERING, K.H.; Van SOEST, P.J. **Forage fiber analysis: apparatus, reagents, procedures and some application**. Washington: USDA, 1970. 379p.

GRIFFIN, G.F.; LAINE, A.F. Nitrogen mineralization in soils previously amended with organic wastes. **Agronomy Journal**, Madison, v.75, p.124-129, 1983.

GRIFFIN, T. S. Nitrogen availability. In: Schepers, J. S.; Raun, W. R. **Nitrogen in agricultural systems**. 1 ed. Madison, WI: Agronomy Monograph 49 ASA, CSSA, and SSSA. 2008. p.613-646.

GRIFFIN, T.S.; HE, Z.; HONEYCUTT, C.W. Manure composition affects net transformation of nitrogen from dairy manures. **Plant and Soil**, The Hague, v.273, p.29-38, 2005.

GRIFFIN, T.S.; HONEYCUTT, C.W. Using growing degree days to predict nitrogen availability from livestock manure. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.64, p.1876-1882, 2000.

GUNTIÑAS, M.E.; LEIRÓS, M.C.; TRASAR-CEPEDA, C.; GIL-SOTRES, F. Effects of moisture and temperature on net soil nitrogen mineralization: A laboratory study. **European Journal of Soil Biology**, Montrouge, v.48, p.73 - 80, 2012.

GUO, X.; DRURY, C.F.; YANG, X.; REYNOLDS, W.D.; ZHANG, R. Impacts of wet-dry cycles and a range of constant water contents on carbon mineralization in soils under three cropping treatments. **Soil Science Society of America Journal**, v. 76, n. 2, p. 485-493, 2012.

HANAN, E.J.; SCHIMEL, J.P.; DOWDY, K.; D'ANTONIO, C.M. Effects of substrate supply, pH, and char on net nitrogen mineralization and nitrification along a wildfire-structured age gradient in chaparral. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v.95, p.87-99, 2016.

HANSELMAN, T.A.; GRAETZ, D.A.; OBREZA, T.A. A comparison of in situ methods for measuring net nitrogen mineralization rates of organic soil amendments. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.33, p.1098-1105, 2004.

HART, S.C.; FIRESTONE, M.K. Evaluation of three in situ soil nitrogen availability assays. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v.19, p.18-191, 1988.

HATCH, D.J.; BHOGAL, A.; LOVELL, R.D.; SHEPARD, M.A.; JARVIS, S.C. Comparison of different methodologies for field measurement of net nitrogen

mineralization in pasture soils under different soil conditions. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.32, p.287-293, 2000.

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

HOFMAN, G; VAN CLEEMPUT, O. **Soil and plant nitrogen**. Paris, France: International Fertilizer Industry Association, 2004.

HONEYCUTT, C.W.; GRIFFIN, T.S.; WIENHOLD, B.J. et al. Protocols for nationally coordinated laboratory and field research on manure nitrogen mineralization. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.36, p. 2807-2822, 2005.

HOOK, P.B., BURKE, I.C. Evaluation of methods for estimating net nitrogen mineralization in a semiarid grassland. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.59, p.831-837, 1995.

ISAAC, M.E.; TIMMER, V.R.. Comparing in situ methods for measuring nitrogen mineralization under mock precipitation regimes. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v.87, p.39-42, 2007.

KHANNA, P.K.; RAISON, R.J. *In situ* core methods for estimating soil mineral-N fluxes: Re-evaluation based on 25 years of application and experience. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v.30, p.1-8, 2012.

KIEHL, E.J. **Fertilizantes orgânicos**. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda, 1985. 492p.

KOLBERG, R.L.; ROUPPET, B.; WESTFALL, D.G.; PETERSON, G.A. Evaluation of an *in situ* net soil nitrogen mineralization method in dryland agroecosystems. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.61, p.504-508, 1997.

KUHNEN, F. **Mineralização de nitrogênio de solo e de resíduo orgânico em laboratório e em campo**. 2013. 64f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

LEGG, J.O.; MEISINGER, J.J. Soil nitrogen budgets. **Nitrogen in agricultural soils**, n. nitrogeninagrics, p. 503-566, 1982.

LENTZ, R.D.; LEHRSCHE, G.A.; BROWN, B.; JOHNSON-MAYNARD, J.; LEYTEM, A.B. Dairy manure nitrogen availability in eroded and noneroded soil for sugarbeet followed by small grains. **Agronomy Journal**, Madison, v.103, 628-643, 2011.

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

LINDEMANN, W.C.; CARDENAS, M. Nitrogen mineralization potencial and nitrogen transformations of sludge-amended soil. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.48, p.1072-1077, 1984.

MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M. Fisiologia da produção de milho. **Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica**, 2006.

MARIANO, E.; TRIVELIN, P. C. O.; LEITE, J. M.; MEGDA, M. X. V.; OTTO, R.; FRANCO, H. C. K. Incubation methods for assessing mineralizable nitrogen in soils under sugarcane. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 37, p. 450-461, 2013.

MENEZES, R.S.C.; SALCEDO, I.H. Mineralização de N após incorporação de adubos orgânicos em um Neossolo Regolítico cultivado com milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.11, p.361-367, 2007.

MIKHA, M.M.; RICE, C.W.; BENJAMIN, J.G. Estimating soil mineralizable nitrogen under different management practices. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.70, p.1522-1531, 2006.

MOBERG, D. P.; JOHNSON, R. L.; SULLIVAN, D. M. Comparison of disturbed and undisturbed soil core methods to estimate nitrogen-mineralization rates in manured agricultural soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 44, p. 1722–1732, 2013.

MONACO, S.; SACCO, D.; BORDA, T.; GRIGNANI, C. Field measurement of net nitrogen mineralization of manured soil cropped to maize. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.46, p.179-184, 2010.

PARKER, C.F.; SOMMERS, L.E. Mineralization of nitrogen in sewage sludges. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.12, p.150-156, 1983.

PARKIN, T. B.; KASPAR, T. C.; CAMBARDELLA, C. Oat plant effects on net nitrogen mineralization. **Plant and Soil**, The Hague, v.243, p.187-195, 2002.

PEREIRA, J.M.; MUNIZ, J.A.; SÁFADI, T.; SILVA, C.A. Comparação entre modelos para predição do nitrogênio mineralizado: uma abordagem bayesiana. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, p.1792-1797, 2009.

PROBERT, M.E.; DELVE, R.J.; KIMANI, S.K.; DIMES, J.P. Modelling nitrogen mineralization from manures: representing quality aspects by varying C:N ratio of sub-pools. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v.37, p.279-287, 2005.

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

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Eds.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas, IAC, 1997. 285p. (Boletim técnico, 100)

RAIJ, B. van; QUAGGIO, J.A. Determinação de fósforo, cálcio, magnésio e potássio extraídos com resina trocadora de íons. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Eds.) **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. p. 189-199.

RENFREW, A.; MORGAN, P. Polythene: The technology and uses of ethylene polymers. In: RENFREW, A; MORGAN, P. (Eds.) **Interscience**. New York; Iliffe, London, 1960. xxi+ 781 p.

RHODEN, A.C.; SILVA, L.S.; CAMARGO, F.A.O.; BRITZKE, D.; BENEDETTI, E.L. Mineralização anaeróbia do nitrogênio em solos de várzea do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, p.1780-1787, 2006.

SALMERÓN-MIRANDA, F.; BÅTH, B.; ECKERSTEN, H.; FORKMAN, J.; WIVSTAD, M. Aboveground nitrogen in relation to estimated total plant uptake in maize and bean. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v.79, p.125-139, 2007.

SBIH, M.; N'DAYEGAMIYE, A.; KARAM, A. Evaluation of carbon and nitrogen mineralization rates in meadow soils from dairy farms under transit to biological cropping systems. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v.83, p.25-33, 2003.

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

SIMARD, R.R.; N'DAYEGAMIYE, A. Nitrogen-mineralization potential of meadow soils. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v.73, p.27-38, 1993.

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

SUBLER, S.; PARMELEE, R.W.; ALLEN, M.F. Comparison of buried bag and PVC core methods for *in situ* measurement of nitrogen mineralization rates in an agricultural soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.26, p.2369-2381, 1995.

SYLVESTRE, T.B. **Mineralização de nitrogênio do esterco bovino e produção de alface em função de N-ureia**. 2013. 45p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2010.

THOMAS, B.W.; SHARIFI, M.; WHALEN, J.K.; CHANTIGNY, M.H. Mineralizable Nitrogen Responds Differently to Manure Type in Contrasting Soil Textures. **Soil Science Society of America Journal**. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.79, p.1396-1405, 2015.

TISDALE, S. L., NELSON, W. L., AND BEATON, J. D. **Soil fertility and fertilizers**. 4. ed. New York: Macmillan Publishing Company, 1985.

U.S. Environmental Protection Agency (EPA). **Inventory of U.S. Greenhouse Gas Emissions and Sinks: p.1990-2008**, 2010. EPA 430-R-10-006.

Van KESSEL, J.; REEVES III, J. Nitrogen mineralization potential of dairy manures and its relationship to composition. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.36, p.118–123, 2002.

VERSTRAETE, W.; VOETS, J.P. Nitrogen mineralization tests and potentials in relation to soil management. **Pedologie**, Gent, v.26, p.15-26, 1976.

WANG, W.J.; SMITH, C.J.; CHEN, D. Towards a standardised procedure for determining the potentially mineralisable nitrogen of soil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.37, p.362-374, 2003.

WIENHOLD, B.J. Comparison of laboratory methods and an in situ method for estimating nitrogen mineralization in an irrigated silt-loam soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.38, p.1721-1732, 2007.

WIENHOLD, B.J.; HALVORSON, A.D. Nitrogen mineralization responses to cropping, tillage, and nitrogen rate in the northern great plains. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.63, p.192-196, 1999.

WIENHOLD, B.J.; VARVEL, G.E.; WILHELM, W.W. Container and installation time effects on soil moisture, temperature, and inorganic nitrogen retention for an in situ nitrogen mineralization method. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.40, p.2044-2057, 2009.

XIANG, S.R.; DOYLE, A.; HOLDEN, P.A.; SCHIMEL, J.P. Drying and rewetting effects on C and N mineralization and microbial activity in surface and subsurface California grassland soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v.40, p.2281–2289, 2008.

YAGI, R.; FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P.; BARBOSA, J.C. Mineralização potencial e líquida de nitrogênio em solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 385-394, 2009.

YAN, D.Z.; WANG, D.J.; SUN, R.J.; LIN, J.H. N mineralization as affected by longterm N fertilization and its relationship with crop N uptake. **Pedosphere**, v.16, p.125-130, 2006.

ZEBARTH, B.J.; DURY, C.F.; TREMLAY, N.; CAMBOURIS, A.N. Opportunities for improved fertilizer nitrogen management in production of arable crops in eastern Canada: A review. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v.89, p.113-132, 2009.