# UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

**MURILO IMPULCETTO MONTEIRO DE MORAES** 

Mineralização bruta (amonificação) de nitrogênio em solos cultivados com cana-de-açúcar

Piracicaba 2012

## **MURILO IMPULCETTO MONTEIRO DE MORAES**

# Mineralização bruta (amonificação) de nitrogênio em solos cultivados com cana-de-açúcar

Versão revisada de acordo com a Resolução CopGr 6018 de 2011

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Ocheuze Trivelin

Piracicaba 2012 AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

> Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Moraes, Murilo Impulcetto Monteiro de

Mineralização bruta (amonificação) de nitrogênio em solos cultivados com cana-de-açúcar / Murilo Impulcetto Monteiro de Moraes; Orientador Paulo Cesar Ocheuze Trivelin. - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2012.

83 p. : il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.

1. Diluição isotópica 2. Latossolos 3. Matéria orgânica do solo 4. Modelos matemáticos 5. Plantas produtoras de açúcar I. Título

CDU 633.61 : 631.452

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais Vera Lucia I. M. de Moraes e Luiz Carlos Monteiro de Moraes (*in memoriam*), pela dedicação, amor e continuo apoio para meus sonhos se tornarem realidade.

A minha irmã Marcela Monteiro de Moraes Pelo carinho e amizade verdadeira.

## A todos familiares,

que direta ou indiretamente sempre contribuíram para minha educação e formação!

## DEDICO

À Fernanda Viginotti Alves, companheira incansável durante esses anos, pelo amor, carinho e estimulo em diversos momentos, com você as coisas se tornam mais fáceis.

OFEREÇO

### AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e por me proporcionar grandes oportunidades na vida.

Ao Prof. Dr. Paulo Cesar Ocheuze Trivelin, exemplo de orientador, sempre presente para ensinar, orientar e incentivar. Agradeço pela oportunidade de poder fazer parte de sua equipe.

Ao amigo Eduardo Mariano, exemplo de pessoa, que tanto ajudou na condução desta dissertação. Agradeço pelos incansáveis ensinamentos sobre mineralização bruta e ajuda em qualquer momento.

Aos colegas de pós-graduação, Oriel Thiago Kölln, José Marcos Leite, Eduardo Mariano, Michele Xavier Vieira Megda, João José de Miranda Milagres, Danilo A. Ferreira, Henrique C. J. Franco, Carlos Roberto Sant'anna Filho, Evandro L. Schoninger, Renato Alessandro Lopes e Rafael Otto, com os quais tive o prazer de conviver.

A todo o pessoal do time de futebol do CENA pelo grande convívio e companheirismo de todas as terças e quintas-feiras.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) e ao Programa de Pósgraduação em Ciências, pela oportunidade do mestrado e em especial ao Laboratório de Isótopos Estáveis - LIE, pela excelente infraestrutura.

A Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" pela excelente infraestrutura oferecida em apoio à minha pós-graduação.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela concessão da bolsa de estudos (Processo nº 2010/02664-5) durante o período de agosto de 2010 a fevereiro de 2012.

Ao Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) pela sólida formação profissional e pessoal. A todos os professores que passaram pela minha formação e em especial ao Prof. Dr. Marcio Roberto Soares, pessoa de grande caráter e sempre disposto a ensinar, meu muito obrigado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão de bolsa de estudos durante os meses de março a julho de 2010.

Aos meus "filhos" de patas, pelas recepções sempre festivas e exemplo de amor verdadeiro.

A toda equipe do LIE - CENA/USP: Professores José Albertino Bendassolli, Helder de Oliveira e Jefferson Mortatti; aos funcionários, Magda de Mello, Miguel Luiz Baldessin, Juliana Graciela Giovannini, Bento Moçambique de Moraes Neto, Clélber Vieira Prestes e Glauco Arnold Tavares, pelo excelente ambiente de trabalho e laços de amizade construídos. Em especial ao Hugo Henrique Batagello, pela amizade e ensinamentos, e José Aurélio Bonassi (Pingin), pelas conversas e ensinamentos.

À estagiária Maria Stefânia Cruanhes D´Andréa pelo grande auxílio nas etapas experimentais da dissertação e a Luiz Renato Marques Tarifa, Thiago Aurélio Bonassi, Lucas Peres Miachon, Adriano Claudino da Silva, Guilherme Arf Torres e Gabriela Carvalho Mello pelo grandioso auxílio prestado durante este projeto de pesquisa.

Aos companheiros de Edifício Monte Carlo, Rafael Carvalho Fior e Evandro de Jesus Ganem Junior, presentes em vários momentos deste projeto.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, participaram de mais esta etapa da minha vida.

## **MUITO OBRIGADO!**

"Só o que está morto não muda! Repito por pura alegria de viver: A salvação é pelo risco, Sem o qual a vida não vale a pena!!!"

**Clarice Lispector** 

"Se você quer ser bem sucedido, precisa ter dedicação total, buscar seu último limite e dar o melhor de si mesmo."

Ayrton Senna

#### RESUMO

MORAES, M. I. M. Mineralização bruta (amonificação) de nitrogênio em solos cultivados com cana-de-açúcar. 2012. 83 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

A ciclagem do nitrogênio (N) apresenta dinâmica complexa, pelas múltiplas transformações e por sua mobilidade no sistema solo-planta-atmosfera. Assim, o estudo das taxas de conversão do ciclo interno de N é fundamental, visto que essas taxas têm efeito direto na produtividade e na qualidade ambiental de um agroecossistema. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da temperatura e umidade na taxa de mineralização bruta de N (TMB) em solos cultivados com canade-açúcar no estado de São Paulo, e por meio de modelo matemático, estimar a TMB considerando as variações de temperatura e umidade do solo in situ. Foram utilizados um LATOSSOLO VERMELHO distrófico (LVd) e um LATOSSOLO VERMELHO eutrófico (LVe), coletados nos municípios de Piracicaba e Santa Cruz das Palmeiras, respectivamente. As amostragens foram realizadas nas camadas de 0-10, 10-20 e 20-30 cm do solo, em julho de 2010. A guantificação da TMB em laboratório foi realizada por meio de incubações nas temperaturas de 15, 20, 25 e 30 °C, além de guatro umidades (30, 40, 60 e 80 % da capacidade máxima de retenção de água – CMRA). Foi utilizada a técnica da diluição do isótopo <sup>15</sup>N, com aplicação de solução de (<sup>15</sup>NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> nas amostras de solo e determinação do teor de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e da abundância isotópica 48 e 96 h após a marcação. A simulação da mineralização bruta em condições de campo foi efetuada por meio das isotermas da TMB juntamente com dados de umidade e temperatura do solo dos dois ensaios. O período modelado ocorreu entre as fases de adubação e colheita da sogueira. O conteúdo de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> do solo apresentou valores reduzidos nas diferentes temperaturas, independentemente da camada, umidade e tipo de solo. As TMB foram relativamente baixas (menores que 2,5 mg kg<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> de N) para todos os tratamentos. Em geral, a taxa de consumo bruto (TCB) foi maior que a TMB, indicando alta imobilização/nitrificação. Foi verificado estímulo na TMB com o aumento da umidade e temperatura, para ambos os solos. A TMB e TCB foram maiores na temperatura de 25 °C e a 60 % da CMRA. A modelagem matemática indicou maior TMB entre os meses de novembro a marco, marcada pelas chuvas intensas e temperaturas elevadas. O acúmulo de N-NH4<sup>+</sup> amonificado durante os meses simulados alcançou 133 e 91 kg ha<sup>-1</sup> para os solos LVe e LVd respectivamente.. A metodologia de diluição do isótopo <sup>15</sup>N é uma potencial ferramenta para quantificar a mineralização de N.

**Palavras-chave:** *Saccharum* spp. Matéria orgânica do solo. Diluição do isótopo <sup>15</sup>N. Modelagem matemática.

#### ABSTRACT

MORAES, M. I. M. Gross mineralization (ammonification) of nitrogen in soils cropped with sugarcane. 2012. 83 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

The N cycling has a complex dynamics, due to the multiple transformations and its mobility in the soil-plant-atmosphere. Thus, the study of the conversion rates of the N internal cycle is crucial because these rates have direct effect on yield and environmental quality of an agroecosystem. The aim of this study was to evaluate the effect of temperature and humidity on gross N mineralization (GNM) in sugarcane cropped soils in São Paulo state, and through mathematical model estimates the GNM considering the variations of soil temperature and humidity in situ. Was used a Typic Hapludox (TH) and a Typic Eutrustox (TE), sampled in the cities of Piracicaba and Santa Cruz das Palmeiras respectively. Samples were taken at 0-10, 10-20 and 20-30 cm soil, in July 2010. Quantification of GNM in the laboratory was performed by incubation at 15, 20, 25 and 30 °C, and four humidities (30, 40, 60 and 80 % of the water holding capacity - WHC). Was used the <sup>15</sup>N isotope dilution technique, with application of (<sup>15</sup>NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution in the soil samples and subsequent determination of N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and isotopic abundance after 48 and 96 h of labeling. The simulation of gross mineralization under field conditions was performed through the GNM isotherms and the data from soil moisture and temperature of the two sites. The modeled period was between the N fertilization and sugarcane harvesting phases. The N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> soil content showed reduced values at different temperatures, regardless of layer, moisture and soil type. The GNM were relatively low (less than 2.5 mg kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> of N) for all treatments. In general, the gross consumption (GC) was higher than the GNM, indicating high immobilization/nitrification. Stimulation was observed in GNM with increasing humidity and temperature, in both soils. The GNM and GC were higher at 25 °C and 60 % of WHC. Mathematical modeling indicated higher GNM between the months November to March, marked by heavy rains and high temperatures. The accumulation of mineralized N-NH4<sup>+</sup> in the model achieved 133 and 91 kg ha<sup>-1</sup> for soils and LVe LVd respectively. The <sup>15</sup>N isotope dilution method is a potential tool to quantify the N mineralization.

**Keywords:** *Saccharum* spp. Soil organic matter. <sup>15</sup>N isotope dilution. Mathematical modeling.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo resumido do nitrogênio no solo. Adaptado de Cantarella (2007)......27

Figura 8. Variação da porcentagem da capacidade máxima de retenção de água no solo (% CMRA) no período de 08 de novembro de 2009 a 15 de junho de 2010, nas camadas de 0-20 e 20-40 cm, para os solos LVd e LVe.......45

Figura 10. Conteúdo de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo LVe após 48 (amônio inicial) e 96 h (amônio final) da aplicação do  $(^{15}NH_4)_2SO_4$  em diferentes camadas (0-10, 10-20 e 20-30 cm) em quatro umidades (% da CMRA) e nas temperaturas de 25 e 30 °C. Os valores acima das barras verticais indicam a média e o desvio padrão respectivamente........50

## LISTA DE TABELAS

# SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 Importância do setor sucroenergético	23
2.2 Uso de fertilizantes e a necessidade de nitrogênio pela cana-de-açúcar	24
2.3 Dinâmica do nitrogênio no sistema solo-planta	25
2.4 Mineralização bruta de N	29
2.5 Simulações da TMB em condições de campo	34
3. MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1 Coleta e preparo das amostras de solo	37
3.2 Determinação da capacidade máxima de retenção de água	39
3.3 Preparo das amostras e incubação	39
3.4 Injeção do sulfato de amônio enriquecido em <sup>15</sup> N	40
3.5 Extração e quantificação do N-NH4 <sup>+</sup>	42
3.6 Análise isotópica de <sup>15</sup> N e cálculo da mineralização bruta de N	42
3.7 Modelagem da mineralização bruta em condições de campo	43
3.8 Análise estatística dos resultados	46
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1 Conteúdo de N-NH4 <sup>+</sup> no solo	47
4.2 Taxa de mineralização bruta de N	55
4.3 Modelagem da mineralização bruta de N em condições de campo	64
5. CONCLUSÕES	69
REFERÊNCIAS	71
ANEXOS	80
Anexo A. Ajuste do tempo de agitação durante o processo de microdifusão	81
Anexo B. Ajuste matemático das isotermas da taxa de mineralização bruta	83

## 1. INTRODUÇÃO

Os fertilizantes, principalmente de origem sintética, tem papel fundamental no aumento da produtividade na agricultura e, atualmente, respondem por cerca de 15 % do custo de produção da cultura da cana-de-açúcar e de todas as culturas agrícolas no Brasil, a cana-de-açúcar é a terceira que mais consome tais insumos. O consumo de fertilizantes no país em 2010 foi de 24,5 milhões de toneladas, dos quais 8,5 milhões de toneladas foram destinados para a soja (35 %), 3,8 milhões de toneladas para o milho (15 %) e 3,7 milhões de toneladas para a cana-de-açúcar (15 %) (ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS, 2010).

Considerando o papel preponderante do nitrogênio (N) na agricultura, o adequado suprimento e uso dos fertilizantes nitrogenados se tornam primordial para que o país possa se consolidar como um grande produtor agrícola mundial. A maior parte do N nos solos ocorre como componente da matéria orgânica do solo (MOS), não diretamente disponível para as plantas. O teor de N total da camada arável dos solos cultivados geralmente varia de 0,05 a 0,5 % de N, o que equivale a conteúdos da ordem de 1.000 a 10.000 kg ha<sup>-1</sup> de N (CANTARELLA; ABREU; BERTON, 1992).

Embora o processo de mineralização da MOS seja gradual e lento, o seu estudo é de grande importância, visto que a taxa de conversão de N orgânico a N mineral, nas formas de N-amônio e N-nitrato, é fundamental no efeito direto de produtividade agrícola (GAVA, 2003). Os fatores ambientais afetam a disponibilidade do N no solo para as plantas, e estes fatores estão relacionados à sua ação sobre a atividade dos microrganismos decompositores (quimiorganotróficos). São eles: a temperatura (CAMPBELL et al., 1981), a umidade (GAVA et al., 2002; PILBEAM; WARREN, 1995), o teor de MOS (DORAN, 1980; DICK, 1983), a localização da MOS (PARKER et al., 1957) e a quantidade do resíduo vegetal deixado no solo (BROWN; DICKEY, 1970).

Um procedimento muito difundido para quantificar a mineralização do N do solo consiste na determinação da taxa líquida de produção de N mineral por meio de incubações aeróbias de longa duração (STANFORD; SMITH, 1972) em condições controladas de temperatura e umidade. Contudo, esta técnica apresenta alto consumo de tempo (aproximadamente 32 semanas de incubação), além de ser laboriosa. Outras desvantagens do método residem na impossibilidade de

extrapolação dos resultados para condições de campo, pela ausência de absorção do N mineral pelas raízes de plantas; a ausência de flutuações naturais de temperatura e umidade que ocorrem no campo e o efeito do processamento (peneiramento e secamento) das amostras de solo previamente à incubação de longa duração (ZAK et al., 1999; CARPENTER-BOGGS et al., 2000; WIENHOLD, 2007; LUCE et al., 2011). Por outro lado, a incubação anaeróbia de curta duração (KEENEY; BREMNER, 1966) consiste na incubação de amostras de solo por uma semana, a temperatura de 40 °C. Esta metodologia apresenta algumas vantagens à incubação de longa duração, como maior operacionalidade e rapidez nos resultados (KEENEY, 1982).

A técnica da mineralização bruta de N (MB), que exclui o processo de imobilização do N liberado, tem permitido uma melhor avaliação das taxas de transformação do N que ocorre no solo, porém esta só pode ser estimada utilizandose a técnica da diluição do isótopo <sup>15</sup>N, com prévio enriquecimento do "*pool*" de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> do solo pela elevação na abundância em átomos de <sup>15</sup>N em níveis acima da abundância natural (0,3663 %). Com isso, a diluição do enriquecimento de <sup>15</sup>N no tempo é dada pelo <sup>14</sup>NH<sub>4</sub><sup>+</sup> proveniente da mineralização da MOS. Dessa maneira, se determina a taxa de mineralização bruta de N (TMB) pela diferença do enriquecimento do "*pool*" de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> com auxílio de modelos matemáticos em tempos diferentes de incubação (MURPHY et al., 2003). As principais limitações, além do custo e das complexidades metodológicas inerentes a estudos com o traçador <sup>15</sup>N, surgem quando os dados estáticos de incubação de amostras superficiais peneiradas de solo devem ser extrapolados para condições de campo.

A quantificação *in situ* da TMB é uma metodologia altamente recomendada (HART et al., 1994), pois é possível acompanhar as variações reais de temperatura e umidade do solo. Todavia, a determinação da TMB diretamente no campo é altamente laboriosa, pois exige alto número de repetições por tratamento (HART et al., 1994). Uma alternativa ao método *in situ* é a modelagem matemática, realizada a partir da TMB de amostras de solo determinadas em condições de laboratório, juntamente com dados de umidade e temperatura do referido solo coletados durante determinado período (PILBEAM; WARREN, 1995).

Diante do exposto, este trabalho objetivou estabelecer isotermas da TMB relacionadas a solos cultivados com cana-de-açúcar no Estado de São Paulo, em função de diferentes umidades e temperatura de incubação, além da simulação da TMB em condições de campo, por meio das isotermas da TMB juntamente com valores de umidade e temperatura dos solos.

### 2. REVISÃO DE LITERATURA

#### 2.1 Importância do setor sucroenergético

A cana-de-açúcar é uma Poaceae cultivada mundialmente nas regiões tropicais e subtropicais. O Brasil é o maior produtor mundial e o país com maior potencial de expansão da área plantada com a cultura, e por situar-se, predominantemente, nas faixas tropicais e subtropicais, recebe durante todo o ano intensa radiação solar que é base da produção de bioenergia, e, também, pelo fato de a cana-de-açúcar ser de metabolismo de carbono tipo C<sub>4</sub>, caracterizado por altas taxas de fotossíntese líquida, sendo assim altamente eficiente na produção de matéria seca (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997; BRASIL, 2005).

De acordo com dados da safra de 2011/2012, o Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar, com total de 8,4 milhões de hectares plantados, com produtividade média de 69 Mg ha<sup>-1</sup> de colmos. A produção anual situa-se em torno de 590 milhões de toneladas de colmos de cana-de-açúcar, que correspondem a 38 milhões de toneladas de açúcar e 27,6 bilhões de litros de etanol. O Estado de São Paulo contribui com mais de 54 % da produção canavieira nacional, com área total da cultura de cerca de 4,3 milhões de hectares (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB, 2011).

O Brasil é líder mundial na geração e na implantação de uma moderna tecnologia de agricultura tropical. Nela se destaca a cadeia produtiva do etanol, reconhecida como a mais eficiente do mundo. O etanol, biocombustível derivado da cana-de-açúcar, apresenta como vantagens aos combustíveis fósseis, redução média de 85 % nas emissões dos gases do efeito estufa (BÖRJESSON, 2009) e menor custo de produção por litro (LUO et al., 2009). Outros fatores importantes para a expansão da cultura no Brasil são a exportação crescente de açúcar e etanol devido à competitividade brasileira; a redução das taxas de importação, aliado ao consumo crescente de açúcar no mundo e às condições de solo, relevo e clima (UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR - UNICA, 2011).

#### 2.2 Uso de fertilizantes e a necessidade de nitrogênio pela cana-de-açúcar

Os fertilizantes sintéticos têm sido alvo de frequentes críticas quando o assunto é o custo de produção, devido a elevação de seus preços, seja no setor sucroenergético, como em outras culturas. A alta dos preços tem ligação direta com a importação de matérias-primas para a produção destes insumos. Entre 1988 a 2010, verificou-se que a evolução do consumo total de fertilizantes foi de 151 %, enquanto o aumento no consumo de nutriente N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O (soma NPK) foi 172 % no mesmo período (ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS - ANDA, 2010). Para o mesmo período, o N foi o nutriente que apresentou maior alta de consumo (250 %).

Cerca de 50 % da responsabilidade pelo aumento de produtividade agrícola se deve aos fertilizantes (FAO, 2012), e considerando o papel preponderante do N na agricultura, o adequado suprimento e uso dos fertilizantes nitrogenados se tornam primordial para que o país possa se estabelecer como um grande produtor agrícola global. Estima-se que o consumo de fertilizantes na agricultura brasileira em 2015 será de 3,8 milhões de toneladas de N, 5,2 milhões de toneladas de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 5,8 milhões de toneladas de K<sub>2</sub>O (FACRE, 2007).

Dentre os nutrientes essenciais ao crescimento das plantas, o N tem papel de destaque, por fazer parte de todos os aminoácidos, ácidos nucléicos e proteínas, além de vários outros compostos das plantas (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997). Este elemento também atua diretamente no perfilhamento e crescimento da cana-de-açúcar, sendo um dos nutrientes minerais mais extraídos perdendo apenas para o K (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997; OLIVEIRA, 2011). Em média, a planta de cana-de-açúcar exporta de 0,7 a 1,1 kg de N por tonelada de colmos produzidos (ORLANDO FILHO, 1983; OLIVEIRA, 2011).

A fertilização nitrogenada destaca-se como uma das práticas culturais mais estudadas. No Brasil e em diversos países, a determinação da dose de N a ser aplicada nas culturas, incluindo a cana-de-açúcar, é determinada com base na expectativa de produtividade e o histórico da área. Outra medida importante baseiase na identificação da exigência nutricional nos diferentes estádios fenológicos de crescimento da cultura, o que possibilita realizar adubações na época mais próxima da necessidade da planta, coincidindo com a fase de máximo crescimento. A demanda por nutrientes durante o crescimento da cana-de-açúcar é estimada pela quantificação dos nutrientes acumulados em relação à produção de biomassa (COALE et al., 1993; OLIVEIRA, 2011). Estudos realizados utilizando-se o isótopo estável <sup>15</sup>N indicaram que o aproveitamento do N-fertilizante aplicado em solo cultivado com cana-de-açúcar pode variar, em média, de 20 a 40 % (TRIVELIN et al., 1995; PRASERTSAK et al., 2002).

Para a cana-de-açúcar, diversas fontes de N podem contribuir para seu desenvolvimento, tais como o N da palhada remanescente (TRIVELIN et al., 2002), o colmo semente utilizado no plantio (CARNEIRO et al., 1995), a fixação biológica de N<sub>2</sub> por microrganismos endofíticos associados à cultura (BODDEY et al., 2003) e o N fertilizante fornecido por diversas fontes minerais (VITTI et al., 2007). Alguns estudos têm apontado que a maior contribuição do N para a cana-de-açúcar pode ser através da mineralização do N (BASANTA et al., 2003; MARIANO, 2010). Dourado-Neto et al. (2010) e Franco et al. (2011), mostraram que os fertilizantes sintéticos atuam como uma fonte imediata de N às plantas, porém a principal fonte de N para as culturas é o N da MOS.

Portanto, torna-se vital um estudo aprofundado da dinâmica do N no solo no agroecossistema da cana-de-açúcar, visando esclarecer as principais fontes desse nutriente para a cultura, visando uma maior eficiência e consequentemente maiores produtividades e menores danos ambientais.

#### 2.3 Dinâmica do nitrogênio no sistema solo-planta

O grande reservatório de N para a biosfera encontra-se na forma de N<sub>2</sub> gasoso que constitui cerca de 80 % dos gases da atmosfera, sendo que a escassez desse nutriente em formas disponíveis as plantas pode ser explicado pela estabilidade do N<sub>2</sub> (SOUZA; FERNANDES, 2006). O N<sub>2</sub>, embora seja um dos gases mais abundantes na natureza, não está diretamente disponível às plantas, sendo sua utilização dependente da conversão do mesmo para estados mais oxidados como nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) ou reduzido na forma de amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (CAMARGO, 1989).

De todos os elementos que estão em constantes ciclagens no sistema soloplanta-atmosfera, o que sofre maior número de transformações biogeoquímicas no solo é o N (CAMARGO; SÁ, 2004; STEVENSON, 1982) e sob o ponto de vista agrícola, o ciclo do N no solo apresenta alta importância dada sua importância para a nutrição das plantas. O N no solo esta predominantemente na forma orgânica mais de 95% do N total (KEENEY, 1982). As frações inorgânicas são compostas principalmente por NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, mas pequenas concentrações de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> podem ocorrer em algumas situações. Em menores proporções, ocorrem N<sub>2</sub> e outros gases como NO<sub>x</sub> na atmosfera e na solução do solo. A despeito da grande quantidade de N estocado na espessa camada da crosta terrestre, a contribuição do N dos minerais para a formação do N do solo é muito pequena, pois a concentração de N reativo em rochas e no material de origem dos solos é baixa. A maior parte do N do solo provém do ar, por deposições atmosféricas de formas combinadas de N (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO2) e da fixação biológica de N2, tanto em sistemas não simbióticos quanto simbióticos, por meio de bactérias formadoras de nódulos em raízes de leguminosas (STEVENSON, 1982). As formas reativas ou combinadas de N na atmosfera são formadas com a quebra da ligação entre os átomos de nitrogênio (N≡N) a partir de descargas elétricas ou fotoquimicamente, ou provém do próprio solo ou de oceanos, no processo de ciclagem do N. A queima de combustíveis fósseis também contribui para o fornecimento de N reativo que se deposita no solo a partir da atmosfera (CANTARELLA, 2007).

O N que retorna ao solo por deposição aérea vem na forma de chuva (deposição úmida) ou poeira (deposição seca) e provém do N emitido como NH<sub>3</sub>, ou NO<sub>x</sub> por ação antrópica ou não. A deposição aérea de N (NH<sub>3</sub> + NO<sub>x</sub>) varia de 3 a 5 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de N em áreas agrícolas (LAGREID et al., 1999). As reações envolvendo o N ligado a MOS são predominantemente mediadas por microrganismos e, portanto, afetadas por condições ambientais Assim, dependendo da combinação de fatores (umidade, temperatura, pH, etc.), o N pode ser conservado e se tornar disponível para as plantas. A importância das reações que ocorrem no solo para o balanço de N é apoiada pelo fato de cerca de 95 % do N reciclado na pedosfera interagir no sistema solo-microrganismos-plantas superiores e apenas 5 % passar pela atmosfera e hidrosfera (HAUCK; TANJI, 1982). A Figura 1 apresenta o ciclo biogeoquímico do N no solo.



Figura 1 - Ciclo resumido do nitrogênio no solo. Adaptado de Cantarella (2007)

Gava (2003), ao descrever a dinâmica do N no solo faz uma analogia a uma casa, onde cada forma do elemento ocuparia um determinado compartimento; sendo assim, as transformações bioquímicas são fluxos desse elemento entre os compartimentos, isto é seu movimento entre os "quartos" ou "*pools*", como mostra a Figura 1.

Os principais processos de saída de N do solo em um agroecossistema podem ser caracterizados pela exportação de N por parte da cultura; perdas gasosas por meio dos processos de volatilização de N-NH<sub>3</sub> e desnitrificação de N<sub>2</sub>, NO, NO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>O; erosão; escorrimento superficial e lixiviação ou percolação (GAVA, 2003).

No solo o N encontra-se distribuído em vários compartimentos: i) N orgânico, associado ao solo; ii) N amoniacal, fixado por certos minerais da fração argila e iii) NH<sub>4</sub><sup>+</sup> inorgânico solúvel e compostos de nitrato. A maior parte deste nutriente nos solos ocorre como componente da MOS, não diretamente disponível para as plantas. O teor de N total da camada arável dos solos cultivados brasileiros geralmente varia de 0,05 a 0,5 % de N, o que equivale de 1.000 a 10.000 kg ha<sup>-1</sup>

de N (CANTARELLA et al., 2003). Este compartimento não é o principal estoque de N da biosfera, mas tem um papel primordial, porque a maior parte do N assimilado pelas plantas é derivado dos reservatórios de N-inorgânico ( $NH_4^+$  e  $NO_3^-$ ), resultantes dos processos de mineralização e nitrificação provenientes da MOS (HART et al., 1994).

Somente medições simples e isoladas de alterações nos tamanhos dos "*pools*" não oferecem explicação acerca dos fluxos de entrada e saída desde um "*pool*" para outro, já que, por exemplo, a fração amônio sofre no solo processos que a consomem (imobilização, nitrificação, fixação nas argilas) e que a produzem (mineralização). Do ponto de vista da produção agrícola, os efeitos líquidos da atividade heterotrófica da microbiota do solo na ciclagem de N foram amplamente estudados (mineralização e imobilização líquida de N), ainda que em termos de biologia de solo, bioquímica e ecologia, os estudos dos processos líquidos não reflitam o que realmente está acontecendo no sistema. Por exemplo, uma baixa taxa de mineralização líquida pode ser produto de uma baixa atividade biológica total no ecossistema, ou pode ser o resultado de uma alta atividade de processos que trabalham em sentidos opostos (Figura 2), isto é, mineralização e imobilização bruta muito ativa (VIDELLA, 2004).

Há muitas incertezas dentro do ciclo do N no solo, etapas e passagens entre "*pools*" que ainda estão sem explicações concretas, mostrando a importância de estudos sobre os fatores que controlam os processos de entrada e saída de N do sistema, que podem ter efeito direto na produtividade das plantas.



Figura 2 - Esquemas do processo de mineralização líquida em duas situações contrastantes. Adaptado de Videla (2004)

#### 2.4 Mineralização bruta de N

A importância da MOS como fonte de N inorgânico para as plantas em agroecossistemas é amplamente conhecida (MURPHY et al., 2003). Os solos geralmente possuem elevado estoque de nitrogênio orgânico, porém apenas uma pequena fração (1 a 3 %) é mineralizada, ou seja, é convertida de N na forma orgânica à N mineral durante o ciclo de cultivo (KEENEY, 1982).

Diversas pesquisas tem mostrado diversos resultados a respeito dos fatores que afetam a disponibilidade de N da MOS (JARVIS et al., 1996; SILGRAM; SHEPHERD, 1999; MARTENS, 2000), no entanto, a disponibilidade de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup> sob condições específicas de cultivo permanece impreciso, pois a maioria dos trabalhos determinam apenas a disponibilidade líquida de N. A mineralização líquida de N é o resultado líquido de combinações de taxas brutas dos processos que compõem o ciclo do N, particularmente amonificação, imobilização e nitrificação, podendo ainda interferir nessa taxa a lixiviação, volatilização de NH<sub>3</sub> e a desnitrificação que ocorrem no solo. A estimativa dos fluxos brutos de N no solo permite compreender melhor os processos que governam o ciclo do N e, consequentemente, a disponibilidade do nutriente para as plantas (BARRACLOUGH; PURI, 1995; RECOUS et al., 1999; SPARLING et al., 1995).

A amonificação pode ser denominada como o processo enzimático pelo qual compostos orgânicos nitrogenados do solo são transformados para produzir NH<sub>4</sub><sup>+</sup> como produto da reação de redução por diversos grupos de bactérias, arqueias e fungos. Substratos orgânicos de nitrogênio incluem aminoácidos, aminoaçúcares, purinas e pirimidinas derivados da degradação enzimática de proteínas, aminopolissacarídeos e ácidos nucléicos. Além disso, solos podem receber N orgânico como ureia, a partir da urina ou da aplicação de fertilizantes (MURPHY et al., 2003). Assim, a liberação direta de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> na solução do solo durante a decomposição da MOS é comumente chamada de MB (transformação de N-orgânico para N-mineral). A Figura 3 apresenta uma ilustração esquemática da MB e as taxas brutas de transformação do N no solo, chamada taxa de consumo.

A quantificação do N mineralizado a partir da fração orgânica do N do solo é de interesse agronômico, uma vez que a MOS é o grande reservatório de N utilizado pelas plantas. Existem várias maneiras de avaliar a capacidade do solo de fornecer N inorgânico, alguns procedimentos envolvem métodos de incubação de solo em condições aeróbias ou anaeróbias em laboratório, que determinam índices de mineralização relativos (STANFORD; SMITH, 1972; KEENEY, 1982), não necessariamente extrapoláveis para permitir a quantificação do N liberado por unidade de massa ou volume de solo em condições de campo. Há ainda métodos que envolvem a incubação de solo no interior de tubos inseridos diretamente no campo (*in situ*) a fim de evitar os efeitos de revolvimento do solo e de variações artificiais de temperatura e umidade (RAISON et al., 1987).

O potencial do solo para fornecer N também pode ser estimado pela extração de N por culturas não adubadas, desde que se tenha uma medida do N disponível no solo no início do ciclo. Todos estes procedimentos avaliam a mineralização líquida de N, ou seja, a diferença entre o N mineralizado e a taxa de consumo em determinado período de tempo (NORTON, 2000).

A MB, que exclui a imobilização do N liberado, tem permitido uma melhor avaliação das taxas de transformação do N que ocorrem no solo. Porém, esta só pode ser estimada utilizando-se a técnica do enriquecimento do "*pool*" de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> do solo, primeiramente elevando-se a abundância em átomos de <sup>15</sup>N em níveis acima da abundância natural (0,3663 %). Com isso, a diluição do enriquecimento de <sup>15</sup>N no tempo é dada pelo <sup>14</sup>NH<sub>4</sub><sup>+</sup> proveniente da mineralização da MOS, sendo assim calculado a MB pela diferença do enriquecimento do "*pool*" NH<sub>4</sub><sup>+</sup> através de modelos matemáticos em tempos diferentes (MURPHY et al., 2003). Com esta técnica quantifica-se apenas a TMB, já que os processos que consomem NH<sub>4</sub><sup>+</sup> extrairão <sup>14</sup>N e <sup>15</sup>N em proporção constante, num dado intervalo de tempo.



Figura 3 - Modelo conceitual da diluição isotópica que determina as taxas brutas de transformação do N no solo como a TMB (taxa de mineralização bruta) e a TCB (taxa de consumo bruto), que é dependente dos processos individuais. As linhas sólidas indicam os processos que ocorrem em experimentos de incubação no laboratório e no campo, e as linhas tracejadas indicam os processos que podem ocorrer em experimento de campo. Adaptado de Gava (2003)

Estes conceitos e o desenvolvimento matemático desta técnica foram publicados inicialmente por Kirkham e Bartholomew (1954), mas tiveram pouca utilização de imediato, devido aos altos custos das determinações de <sup>15</sup>N e às condições restritivas das equações. A partir da metade da década de 80, as equações foram simplificadas e superadas algumas restrições, tornando o método mais acessível. Em paralelo a isso, o desenvolvimento da espectrometria de massas automatizada por combustão diminuiu o custo analítico favorecendo a maior utilização da metodologia. Barraclough et al. (1985) e Nishio et al. (1985) publicaram independentemente simplificações das equações propostas por Kirham e Bartholomew (1954), que permitiram a determinação experimental da TMB, expressa pela Equação 1:

$$A_{t}^{*} = A_{0}^{*} / (1 + (\theta_{t} / A_{0})^{m/\theta})$$
 Eq. (1)

Onde:  $A_t^*$  - abundância de <sup>15</sup>N em excesso no "*pool*" de amônio no tempo t;  $A_0^*$  - abundância de <sup>15</sup>N em excesso no "*pool*" de amônio no início (t=0); t - tempo em dias; A - tamanho do "*pool*" de amônio;  $\theta = (A_t^* - A_0^*)/t$ ; m - taxa de mineralização bruta.

A taxa de consumo bruto (TCB) pode ser calculada pela Equação 2, seguindo a metodologia proposta por Hart et al. (1994).

$$C = m - (A_t^* = A_0^*)/t$$
 Eq. (2)

Onde:  $A_{t}^{*}$  - abundância de <sup>15</sup>N em excesso no "*pool*" de amônio no tempo t;  $A_{0}^{*}$  - abundância de <sup>15</sup>N em excesso no "*pool*" de amônio no início (t=0); t - tempo em dias; m - taxa de mineralização bruta; c – consumo.

A Equação 1, utilizada na determinação da TMB, é válida se forem satisfeitas as seguintes condições (BARRACLOUGH, 1991):

1. Os processos que consomem NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, como absorção pelas plantas e nitrificação, não discriminam entre o <sup>14</sup>N e <sup>15</sup>N;

2. O N do marcador deve ser misturado uniformemente com o N nativo do solo, de forma que o N marcado e não marcado sejam utilizados em proporção às quantidades relativas presentes;

3. Durante todo o período experimental, as taxas dos processos devem ser descritas por cinética de ordem zero;

4. O N mineralizado deve ter abundância natural de <sup>15</sup>N (0,3663 %). Isso significa que não deve ocorrer remineralização durante o período experimental.

A primeira condição é satisfeita com os valores de enriquecimento habitualmente utilizados (maiores a 10 % em excesso em átomos de <sup>15</sup>N), que fazem desprezíveis as diferenças originadas pelo fracionamento isotópico. A distribuição homogênea do marcador deve ser atendida cuidadosamente, já que grandes diferenças em tamanho e enriquecimento do "*pool*" amônio podem ocasionar erros nas determinações de TMB (MONHAGAN, 1995). É recomendável a utilização de um injetor múltiplo para distribuir o marcador de maneira o mais homogênea possível e realizar as injeções dispensando a solução, na medida em que o injetor é extraído do solo. No caso de solos com alto conteúdo de areia, onde a difusão da solução marcadora é lenta e a adição de grandes volumes poderá alterar em muito o nível de umidade do solo, é aconselhável a utilização de injetores de gás <sup>15</sup>NH<sub>3</sub> (MURPHY et al., 1997).

A condição de que as taxas do processo devem ser descritas por cinética de ordem zero durante o período experimental não é muito restritiva, já que nas condições habituais de trabalho (entre 2 e 7 dias) a maioria dos processos é adequadamente representada por esta cinética (BARRACLOUGH, 1995). A condição mais restritiva refere-se a não ocorrência de remineralização de N imobilizado durante as determinações. Quando se começa a trabalhar com um solo novo é recomendável que sejam testadas essas condições, realizando experimentos de diluição de "*pool*" em vários intervalos de tempo. A diminuição da TMB no tempo significa que está ocorrendo remineralização, pela entrada de <sup>15</sup>N no "*pool*" amônio, sendo aconselhável trabalhar somente no período que a TMB seja constante. Segundo Barraclough (1995), para solos temperados, com temperatura de 15 °C ou mais, 7 dias seria um intervalo máximo razoável e, enquanto que para solos de regiões tropicais, com temperaturas até 23 °C, 3 a 5 dias seriam adequados para a determinação da TMB e TCB.

Os principais processos que exercem influência na decomposição da MOS adicionada, consequentemente, na mineralização ou imobilização de N, são devidos às características químicas do resíduo vegetal., Como exemplo, tem-se a relação C/N (MYERS et al., 1994), o teor de N (JANZEN; KUCEY, 1988) e os teores de lignina e polifenóis (PALM; SANCHEZ, 1991), além das suas respectivas relações lignina/N, polifenol/N e (lignina + polifenol)/N, sendo que estes atributos e relações estão diretamente relacionadas com a cinética de mineralização de N (PALM; SANCHEZ, 1991).

Existem fatores ambientais que também afetam a disponibilidade do N no solo para as plantas, e estes fatores estão relacionados à sua ação sobre a atividade dos microrganismos decompositores (quimiorganotróficos). São eles: a temperatura (CAMPBELL et al., 1981), a umidade (GAVA et al., 2002; PILBEAM; WARREN, 1995), o teor e a localização da MOS (PARKER et al., 1957; DORAN, 1980; DICK, 1983) e a quantidade do resíduo vegetal deixado no solo (BROWN; DICKEY, 1970).

Para conhecer o aporte de resíduos de plantas no processo de mineralização do N, Hood e Wood (1996) estudaram a mineralização bruta de folhas e raízes de amieiro (*Alnus glutinosa*), verificando que N de raízes representaram menos que 3 % da mineralização total. Em estudo com resíduos de trigo e colza, Barraclough (1997) observou que 24 e 12 % do N da colza e trigo foi mineralizado em 12 dias, respectivamente.

Pilbeam e Warren (1995) utilizaram a técnica da diluição do <sup>15</sup>N para investigar a ausência da resposta do milho à fertilização nitrogenada em uma região do Quênia, em um solo com teor reduzido de N total. Os autores comprovaram que existia uma relação muito estreita entre a mineralização bruta de N e o teor de umidade do solo, e correspondência entre a distribuição anual das chuvas e o crescimento das culturas, favorecendo assim a mineralização do N do solo em algumas situações.

Nos últimos anos, estudos que utilizam a técnica da diluição isotópica do <sup>15</sup>N demonstraram que a mineralização e a imobilização bruta, que determinam a disponibilidade de N, são importantes e parcialmente independentes entre si (SCHIMEL, 1986; DAVIDSON et al., 1991). A estimativa dos fluxos brutos de N no solo permite compreender melhor os processos que governam o ciclo de N e, consequentemente, a disponibilidade de N para as plantas, além de facilitar a predição da mineralização líquida.

#### 2.5 Simulações da TMB em condições de campo

A quantificação *in situ* da TMB é uma metodologia altamente recomendada (HART et al., 1994), pois é possível acompanhar as variações reais de temperatura e umidade do solo, ao contrário de incubações em câmaras climatizadas, onde o controle de umidade e temperatura se faz necessário. Todavia, a determinação da TMB diretamente no campo é altamente laboriosa, pois exige alto número de repetições por tratamento (HART et al., 1994), em função da heterogeneidade espacial do solo. Uma alternativa ao método *in situ* é a modelagem matemática, realizada a partir da TMB de amostras de solo determinadas em condições de laboratório, juntamente com dados de umidade e temperatura do referido solo coletados durante determinado período (PILBEAM; WARREN, 1995).

O estudo de Pilbeam e Warren (1995), onde os autores efetuaram a modelagem matemática da TMB em solos do Quênia, relacionando a TMB obtida em condições de laboratório e valores de umidade do solo durante ciclos agrícolas das
culturas de milho e feijão, indicou alta mineralização de N nos períodos de alta pluviosidade, com consequente elevação no teor de água do solo. Além disso, a ausência de resposta à fertilização nitrogenada no solo pode ser explicada pela alta TMB no solo (PILBEAM; WARREN, 1995).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Coleta e preparo das amostras de solo

Foram utilizadas amostras de solo coletadas em uma área comercial da Usina Iracema, situada na região de Piracicaba – SP (22°35'S e 47°37'W), em área da Usina Abengoa, localizada no município de Santa Cruz das Palmeiras – SP (21°47'S e 47°11'W) (Figuras 4a e 4b). Em ambos os locais, a cana-de-açúcar é cultivada sucessivamente há muitas décadas, sendo que a colheita sem queima foi implementada há alguns anos nas áreas. A coleta dos solos foi realizada em julho de 2010, nas camadas de 0-10,10-20 e 20-30 cm (Figura 4c), com auxílio de trado do tipo holandês, em locais onde não ocorreu recente aplicação de fertilizantes nitrogenados Os solos foram classificados como LATOSSOLO VERMELHO eutrófico (LVe) e LATOSSOLO VERMELHO distrófico (LVd) (EMBRAPA, 2006), nos municípios de Santa Cruz das Palmeiras e Piracicaba respectivamente.

Após serem coletadas, as amostras de solo foram secas em estufa de circulação forçada à temperatura de 40° C (Figura 4d), destorroadas e posteriormente peneiradas (malha ≤ 2 mm de abertura) (Figura 4e) e acondicionadas em temperatura ambiente (Figura 4f). A caracterização química e física dos solos encontra-se na Tabela 1.

Solo <sup>(1)</sup>	Município	Prof.	рН	C orgânico	N total	C/N	CMRA <sup>(2)</sup>
		cm	CaCl <sub>2</sub>	g kg <sup>-1</sup>			g g⁻¹
LVe	Santa Cruz das Palmeiras	0-10	5,7	18,3	1,2	15,4	0,423
		10-20	5,2	16,3	1,1	15,0	0,368
		20-30	4,5	14,5	1,0	15,2	0,335
		0-10	4,3	26,0	1,4	18,1	0,433
LVd	Piracicaba	10-20	4,5	23,0	1,2	19,2	0,406
		20-30	4,5	20,6	1,1	18,4	0,366

Tabela 1 - Propriedades químicas dos solos cultivados com cana-de-açúcar utilizados no<br/>experimento, nas camadas de 0-10, 10-20 e 20-30 cm

<sup>(1)</sup> LVe: LATOSSOLO VERMELHO eutrófico e LVd: LATOSSOLO VERMELHO distrófico (EMBRAPA, 2006). <sup>(2)</sup> CMRA: capacidade máxima de retenção de água no solo. A determinação do pH foi realizada segundo Raij et al. (2001), C orgânico e N total de acordo com Barrie e Prosser (1996) e CMRA com base em Silva et al. (2000)



Figura 4 - (a) Coleta dos solos em diferentes profundidades; (b) Acondicionamento dos solos no campo em baldes identificados; (c) Detalhe do local da coleta; (d) Secagem dos solos em estufa a 40 °C; (e) Peneiramento dos solos em laboratório; (f) Acondicionamento dos solos em laboratório

#### 3.2 Determinação da capacidade máxima de retenção de água

A capacidade máxima de retenção de água do solo (CMRA) foi determinada de acordo com Silva et al. (2000), com algumas modificações. Em recipientes plásticos de 50 mL, possuindo pequenos orifícios na base, foram adicionados 30 g de solo (em triplicata) e acondicionados em bandeja contendo lâmina de 10 mm de água desionizada, para reumedecimento das amostras por ascensão capilar por 12 h, visando garantir a saturação completa do solo. Em seguida, os recipientes foram fechados para evitar a evaporação de água, e submetidos à drenagem sobre estrutura metálica por um período não inferior a 20 h, até total cessamento da drenagem livre. Após isso, as amostras foram transferidas para um recipiente de metal, tomando-se na sequência a massa de solo úmido. Em seguida, as amostras foram levadas à estufa para secagem a 105 ℃ por 48 h, para posterior mensuração da massa de solo seco. A CMRA foi determinada com base na massa de água retida pelas amostras após a saturação da porosidade. A partir da CMRA calculou-se a massa de água referente às porcentagens da CMRA para posterior incubação das amostras de solo.

### 3.3 Preparo das amostras e incubação

O experimento constou de quatro temperaturas de incubação (15, 20, 25 e 30 °C) e quatro umidades do solo (30, 40, 60 e 80 % da CMRA). Para o preparo das amostras, foram pesados 80 g de solo (terra fina seca ao ar) e posteriormente acondicionados em copos plásticos cobertos com uma tampa para evitar a dessecação excessiva (Figuras 5a e 5b). Em seguida as amostras de solo foram umedecidas até 30, 40, 60 e 80 % da CMRA e pré-incubadas em uma câmara BOD (MA-415, Marconi LTDA, Piracicaba, BRA) por 14 dias (Figura 5c). A umidade do solo foi corrigida a cada 48 h (Figura 5d). Após o término das determinações para a temperatura de 15 °C, os solos foram novamente preparados como citado acima e pré-incubados nas temperaturas de 20, 25 e 30 °C respectivamente. A pré-incubação foi realizada para permitir a recuperação da atividade biológica do solo após o período em que permaneceu seco e armazenado, e também para evitar o *"flush"* de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> que acontece após a reativação da microbiota (MATAR et al., 1991).

40



Figura 5 - (a) Detalhe ampliado dos solos utilizados no experimento; (b) Solos acondicionados nos copos plásticos prontos para incubação; (c) Detalhe da câmara BOD com amostras de solo em processo de incubação; (d) Correção da umidade do solo

## 3.4 Injeção do sulfato de amônio enriquecido em <sup>15</sup>N

No tempo de 14 dias, contados a partir da etapa de pré-incubação, foi adicionado nas parcelas individuais uma alíquota de 3,5 mL de solução de (<sup>15</sup>NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> com excesso isotópico de 15 %, na dose de 10 µg N g<sup>-1</sup> de solo, com auxílio de micropipeta de volume variável. Após a aplicação do (<sup>15</sup>NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, foi realizada a reposição de água no solo (com base na umidade pré-definida de cada tratamento), com o propósito de facilitar a distribuição da solução marcada com <sup>15</sup>N em todo o recipiente. Para tanto, três dias antes da aplicação do (<sup>15</sup>NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, a manutenção da umidade das amostras de solo foi cessada, visando à reposição após a marcação isotópica.



Figura 6 - (a) Amostras de solo sob agitação; (b) Preparo dos potes para recebimento da amostra após agitação; (c) Preparo para a filtragem dos solos após agitação; (d) Solos identificados em processo de decantação para posterior filtração; (e) Processo de filtração dos solos; (f) Extrato dos solos sob agitação em ambiente escuro para o processo de microdifusão de N

Em cada tratamento, foram preparadas 8 parcelas (recipientes com solo), onde adicionou-se  $({}^{15}NH_4)_2SO_4$  em todas. Em quatro delas a extração do N mineral foi realizado no tempo de 48 h (t<sub>0</sub>) e nas demais após 96 h (t<sub>f</sub>) da marcação isotópica, com base na metodologia proposta por Videla et al. (2005).

## 3.5 Extração e quantificação do N-NH4+

Para quantificação do N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> de cada parcela, foi realizada a extração de todo o solo contido no copo plástico com 240 mL de solução de KCl 2 mol L<sup>-1</sup> (1:3 relação solo: solução – m/v) , sob agitação por 1 h (Figura 6a), de acordo com metodologia descrita por Buresh et al. (1982). A solução contendo a frações minerais de N (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) foi filtrada em papel de filtro nº 42, lavando-se previamente o filtro com solução de KCl supracitada (Figuras 6a, 6b, 6c, 6d, 6e). O teor de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> dos extratos foi determinado por meio de um sistema por injeção em fluxo (FIA), com leitura do sinal resultante em condutivímetro (REIS et al., 1997).

# 3.6 Análise isotópica de <sup>15</sup>N e cálculo da mineralização bruta de N

De cada parcela, foi transferido para recipiente de vidro um volume do extrato de solo correspondente a 100 µg de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, com vistas à realização da microdifusão, que consiste na concentração do N, em soluções com baixo teor do elemento, para filtros acidificados (BROOKES et al., 1989). Foi adicionado ao recipiente um pequeno disco de filtro de microfibra de vidro (Whatman GF/A) contendo 10 µL de solução de KHSO<sub>4</sub> 2,5 mol L<sup>-1</sup> e selado com película de politetrafluoroetileno (PTFE) (SØRENSEN; JENSEN, 1991). A seguir foi adicionado 0,2 g de MgO calcinado, e rapidamente lacrou-se hermeticamente o frasco, para evitar perda de NH<sub>3</sub> por volatilização. Os frascos foram agitados durante 48 h em mesa agitadora horizontal, em ambiente escuro, para evitar a formação de algas (Figura 6f). Depois do processo de microdifusão, foi removida a fita de PTFE e, seguidamente os filtros foram secos em dessecador por 48 h, e colocados em

cápsulas de estanho para posterior determinação da abundância isotópica de <sup>15</sup>N em espectrômetro de massas (ANCA GSL, Sercon Inc., Crewe, GBR).

Foram calculadas as TMB e TCB, as de consumo bruto de amônio (TCB) que inclui a assimilação microbiana, volatilização de amônia, a lixiviação, fixação pelas argilas e nitrificação (Hart et al., 1994). Os cálculos da TMB e TCB foram realizados conforme as Equações 1 e 2. Foram determinadas as equações para cada isoterma da TMB por meio do programa para ajustes de curva TableCurve 2D (versão 5.01, Systat Software Inc., San Jose, USA).

### 3.7 Modelagem da mineralização bruta em condições de campo

As simulações da TMB e o valor acumulado da MB em condições de campo (*in situ*) foram realizados por meio de modelagens matemáticas, com base nos resultados obtidos na determinação das isotermas de TMB no laboratório, juntamente com dados climáticos (temperatura e umidade do solo) obtidos no campo. A TMB e seu acúmulo foram estimados durante o período de novembro de 2009 à junho de 2010 em ambos os locais, e compreendeu desde a etapa de fertilização com NPK até a colheita mecânica da soqueira. Em virtude da dificuldade de locomoção às áreas experimentais periodicamente para a coleta dos dados climáticos (principalmente no experimento situado em Santa Cruz das Palmeiras), utilizaram-se valores de temperatura do solo provenientes de outro experimento com cana-de-açúcar, além do uso de modelagem para se determinar a umidade do solo no período de interesse.



Figura 7 - Valores médios de temperatura do solo nas profundidades de 5, 10 e 15 cm, no período de novembro de 2006 até junho de 2007, em solo cultivado com cana-de-açúcar colhida sem queima no município de Jaboticabal/SP, obtidos a partir do estudo de Ghiberto (2010)

Em relação à temperatura do solo, para os dois solos do presente trabalho, foram utilizados os valores obtidos por Ghiberto (2010), que desenvolveu estudo em um LVd no município de Jaboticabal/SP. Os valores foram coletados quinzenalmente, por meio de geotermômetros instalados a 5, 10 e 15 cm de profundidade, durante os meses de novembro de 2006 e junho de 2007 (Figura 7).

A umidade gravimétrica do solo durante o período da fertilização mineral e a colheita das soqueiras foi modelada a partir de cinco amostragens realizadas durante o estudo de Mariano (2010). Para o LVe, estas coletas foram efetuadas em 12 de novembro e 19 de dezembro de 2009, 25 de fevereiro, 12 de abril e 08 de junho de 2010. Para o solo LVd, as amostragens foram em 07 de novembro e 09 de dezembro de 2009, 07 de janeiro, 04 de março e 31 de maio de 2010. As amostras de solo foram coletas nas camadas de 0-20 e 20-40 cm, e acondicionadas em estufa por 48 h, para determinação da umidade. Posteriormente, modelaram-se os valores de umidade do solo para o período de novembro de 2009 a junho de 2010 nos solos LVd e LVe por meio do programa TableCurve 2D. A partir das equações fornecidas pela modelagem dos valores iniciais da umidade dos solos (Tabela 2), foi possível determinar a variação da % da CMRA no LVd e LVe entre a fase de adubação e colheita da cultura, para as camadas de 0-20 e 20-40 cm do solo (Figura 8).



Figura 8 - Variação da porcentagem da capacidade máxima de retenção de água no solo (% CMRA) no período de 08 de novembro de 2009 a 15 de junho de 2010, nas camadas de 0-20 e 20-40 cm, para os solos LVd e LVe

Tabela 2 - Funções de ajuste e o respectivo valor do coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) para a determinação da CMRA (%) a partir dos dados obtidos em campo para os solos LVd e LVe nas profundidades de 0-20 e 20-40 cm

Solo	Profundidade (cm)	Função ajustada	R <sup>2</sup>
LVd	0-20	CMRA (%) = 47,4946 + 9,5422.10 <sup>-5</sup> . $X^{2.5}$ - 6,9540.10 <sup>-6</sup> . $X^3$ - 1,7246/ $X^2$	0,99
LVd	20-40	CMRA (%) = $52,5070 + 0,00018.X^{2.5} - 1,2936.10^{-5}.X^{3} - 2,3572^{-X}$	0,99
LVe	0-20	CMRA (%) = $33,1961 + 2902,76/X - 88552,36/X^2 + 442598,57^{-X}$	0,95
LVe	20-40	CMRA (%) = 59,3778 + 0,00092. $X^2$ - 6,5958.10 <sup>-8</sup> . $X^4$ + 9,6702.10 <sup>-13</sup>	0,99

X: dias a partir da primeira amostragem para a determinação da umidade para os solos LVe e LVd.

Em seguida, foram realizadas interpolações matemáticas para o cálculo da TMB em condições de campo. Com base nas equações provenientes das isotermas de MB em condições de laboratório (Anexo 2) e os valores de temperatura e umidade gravimétrica dos solos, foi possível estimar a TMB em cada área experimental para os meses compreendidos entre novembro de 2009 e junho de 2010. Da mesma forma, também foi determinada a MB acumulada neste período.

#### 3.8 Análise estatística dos resultados

Os resultados foram submetidos à análise da variância (ANAVA), e em caso de significância as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \le 0.05$ ), por meio do programa estatístico ASSISTAT versão 7.6 (SILVA; AZEVEDO, 2009). O delineamento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x4x2, onde os fatores de variação foram 4 umidades do solo (30, 40, 60, 80 % da CMRA); 4 temperaturas (15, 20, 25 e 30 °C) e 2 solos (LVd e LVe). As camadas de solo foram avaliadas separadamente, em razão da ausência de independência entre as amostras.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Conteúdo de N-NH4<sup>+</sup> no solo

Foi verificado o baixo conteúdo de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> nos solos LVd e LVe, ao longo do estudo nas diferentes temperaturas de incubação, independente da camada e umidade. O teor de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> não ultrapassou 9,1 mg kg<sup>-1</sup> em todos os tratamentos (Tabela 3 e 4) (Figuras 9, 10, 11 e 12). Houve diminuição no teor de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> entre a primeira e segunda extração com KCI após a aplicação do traçador <sup>15</sup>N em todos os tratamentos, podendo indicar a ocorrência de processos que consomem NH<sub>4</sub><sup>+</sup> à taxas elevadas, como a nitrificação e a imobilização, que impediriam o acúmulo de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo. Videla et al. (2005), em trabalho avaliando a TMB em solos do sudoeste de Buenos Aires sob preparo convencional, sistema plantio direto e pastagem, observaram indicativo de consumo de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, ocorrido principalmente pela nitrificação.

Analisando-se as diferentes camadas de solo, nota-se, no caso do solo LVe, pequena variação nos valores de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, tanto nas amostras extraídas a 48 quanto 96 h após a marcação isotópica. As quatro umidades do solo em incubação apresentaram comportamento semelhante quando comparado nos dois tempos de extração, indicando consumo de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Foi verificada uma variação 9,11 a 2,02 mg kg<sup>-1</sup> de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, sendo que o maior valor ocorreu na umidade de 40 % da CMRA, na temperatura de 30 °C e na profundidade de 10-20 cm. Para a profundidade de 0-10 cm, o maior valor de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (5,40 mg kg<sup>-1</sup>), foi obtido na umidade de 40 % da CMRA de água, porém outras umidades também apresentaram comportamento semelhante, com os valores variando em torno de 5 mg kg<sup>-1</sup>. Na profundidade de 20-30 cm o maior valor obtido foi de 7,09 mg kg<sup>-1</sup> de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, na umidade de 60% da máxima capacidade de retenção de água, (Tabela 3) (Figuras 9 e 10). Comportamento semelhante também foi observado para a profundidade de 10-20 cm de solo.

Para o solo LVd também foi verificada, nas três camadas de solo avaliadas, a diminuição no teor de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> entre o primeiro e segundo tempo de extração com KCI (Tabela 4) (Figura 10 e 11), indicando que para esse solo também ocorreu processos de consumo de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Os valores variaram entre 7,86 a 2,61 mg kg<sup>-1</sup> de

 $N-NH_4^+$ . Para as camadas superficiais (0-10 e 10-20 cm), os maiores valores de  $N-NH_4^+$  foram verificados na umidade de 40 % da CMRA (7,77 e 7,86 mg kg<sup>-1</sup> de  $NH_4^+$ , respectivamente), na temperatura de 30 °C. Na profundidade de 20-30 cm, o maior valor de  $N-NH_4^+$  foi obtido na umidade de 60% da CMRA (7,09 mg kg<sup>-1</sup> de  $N-NH_4^+$ ).

Rocha et al. (2008) analisando o efeito da umidade e da temperatura na transformação do N no solo, verificou que os tratamentos com temperatura de 25 ou 35 °C e com teor de água do solo na capacidade de campo, o N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> praticamente desaparece após 60 dias de incubação, ocorrendo maior acúmulo de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Entretanto, na maior parte dos tratamentos havia ainda NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo, sobretudo quando a temperatura ou a umidade foram mantidas em valores reduzidos, indicando que essas duas variáveis influenciam diretamente a taxa de nitrificação. Nessas circunstâncias, a atividade dos microrganismos é reduzida, em virtude da falta de água aliada à baixa mobilidade dos mesmos. Os efeitos fisiológicos relativos a hidratação celular, podem explicar a redução da atividade dos microrganismos nitrificadores (STARK; FIRESTONE, 1995). Da mesma forma Strong e Fillery (2002), observaram que com 74% do espaço poroso do solo preenchido com água, a desnitrificação aumentou rapidamente.



Figura 9 - Conteúdo de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo LVe após 48 (amônio inicial) e 96 h (amônio final) da aplicação do (<sup>15</sup>NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em diferentes camadas (0-10, 10-20 e 20-30 cm) em quatro umidades (% da CMRA) e nas temperaturas de 15 e 20 °C. Os valores acima das barras verticais indicam a média e o desvio padrão respectivamente

15 ℃



Figura 10 - Conteúdo de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo LVe após 48 (amônio inicial) e 96 h (amônio final) da aplicação do (<sup>15</sup>NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em diferentes camadas (0-10, 10-20 e 20-30 cm) em quatro umidades (% da CMRA) e nas temperaturas de 25 e 30 °C. Os valores acima das barras verticais indicam a média e o desvio padrão respectivamente



Figura 11 - Conteúdo de N-NH4<sup>+</sup> no solo LVd após 48 (amônio inicial) e 96 h (amônio final) da aplicação do (<sup>15</sup>NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em diferentes camadas (0-10, 10-20 e 20-30 cm) em quatro umidades (% da CMRA) e nas temperaturas de 15 e 20 °C. Os valores acima das barras verticais indicam a média e o desvio padrão respectivamente

15 °C



Figura 12 - Conteúdo de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo LVd após 48 (amônio inicial) e 96 h (amônio final) da aplicação do (<sup>15</sup>NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em diferentes camadas (0-10, 10-20 e 20-30 cm) em quatro umidades (% da CMRA) e nas temperaturas de 25 e 30 °C. Os valores acima das barras verticais indicam a média e o desvio padrão respectivamente

Umidade	Temperatura	0-10	) cm	10-20	10-20 cm		20-30 cm	
% da CMRA	°C	48 h	96 h	48 h	96 h	48 h	96 h	
				N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (	mg kg <sup>-1</sup> )			
	15	5,18 (0,58)	4,15 (0,27)	5,43 (1,00)	4,35 (0,94)	4,75 (0,66)	3,85 (0,34)	
20	20	4,65 (1,20)	3,48 (0,72)	5,53 (0,75)	4,73 (0,86)	5,10 (0,20)	4,26 (0,12)	
30	25	2,45 (0,39)	2,11 (0,50)	5,44 (0,01)	5,22 (0,21)	5,08 (1,15)	4,14 (0,19)	
	30	4,82 (0,14)	4,09 (0,10)	7,22 (0,30)	7,16 (0,59)	5,13 (0,55)	4,82 (0,13)	
	15	5,19 (0,83)	4,76 (0,36)	6,88 (1,80)	6,33 (0,68)	5,25 (0,83)	4,55 (0,12)	
	20	5,40 (0,22)	4,12 (0,71)	6,04 (0,29)	5,68 (1,07)	5,40 (0,35)	4,15 (0,41)	
40	25	2,03 (0,24)	1,96 (0,54)	6,01 (1,53)	5,21 (0,30)	5,73 (0,21)	5,59 (0,19)	
	30	3,97 (0,92)	3,51 (0,52)	9,02 (0,16)	8,49 (1,12)	6,58 (0,49)	5,96 (0,30)	
	15	5,02 (1,54)	4,23 (0,51)	6,32 (1,11)	5,88 (0,50)	6,00 (0,51)	5,69 (0,23)	
<u></u>	20	5,09 (1,13)	1,77 (0,47)	6,16 (0,61)	5,86 (0,48)	6,42 (0,35)	4,68 (0,63)	
60	25	3,53 (0,11)	0,68 (0,52)	6,61 (0,25)	4,93 (0,59)	6,36 (0,99)	4,43 (0,41)	
	30	4,39 (0,50)	1,26 (0,12)	8,91 (0,50)	6,27 (0,71)	7,09 (1,38)	5,72 (0,35)	
60 80	15	2,80 (1,89)	2,27 (0,45)	6,32 (0,97)	5,22 (0,20)	5,39 (0,67)	5,05 (0,48)	
	20	5,31 (0,64)	4,71 (1,29)	6,46 (2,53)	5,84 (0,51)	6,10 (1,62)	4,85 (0,72)	
80	25	3,15 (0,35)	2,45 (0,26)	5,93 (1,79)	4,16 (0,72)	6,16 (2,12)	5,98 (1,34)	
	30	5,23 (0,37)	3,76 (0,19)	6,35 (0,49)	5,47 (0,43)	6,67 (0,23)	5,09 (0,12)	

**Tabela 3** - Conteúdo de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo LVe após 48 e 96 h da aplicação do (<sup>15</sup>NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em diferentes camadas (0-10, 10-20 e 20-30 cm) em quatro umidades (% da CMRA) e nas temperaturas de 15, 20, 25 e 30 °C. Os valores entre parênteses indicam o desvio padrão

Umidade	Temperatura	0-10 cm		10-2	:0 cm	20-30 cm	
% da CMRA	C	48 h	96 h	48 h	96 h	48 h	24 h
				N-NH <sub>4</sub> + (	mg kg <sup>-1</sup> )		
	15	5,47 (0,89)	5,46 (0,30)	5,04 (0,12)	4,54 (0,41)	4,84 (0,95)	4,25 (0,39)
30	20	6,59 (0,89)	6,33 (0,09)	7,35 (1,39)	5,60 (0,50)	5,95 (0,39)	5,68 (0,57)
00	25	5,41 (0,30)	4,37 (0,30)	5,50 (0,32)	4,58 (0,29)	5,49 (0,42)	4,69 (0,38)
	30	6,22 (0,19)	5,51 (0,06)	6,52 (0,12)	5,51 (0,39)	5,46 (0,29)	4,89 (0,12)
	15	5,82 (0,05)	5,67 (0,53)	6,46 (0,36)	6,15 (1,26)	6,47 (0,12)	6,29 (0,59)
40	20	6,92 (0,46)	6,67 (0,67)	7,48 (0,88)	6,07 (0,15)	6,65 (0,55)	6,48 (0,70)
40	25	6,03 (0,84)	4,94 (0,54)	5,29 (0,33)	4,99 (0,45)	6,53 (1,10)	5,19 (0,50)
	30	7,77 (0,77)	6,25 (1,60)	7,86 (0,71)	7,68 (0,63)	7,03 (0,19)	6,86 (0,59)
	15	5,32 (1,14)	4,98 (0,73)	5,54 (0,65)	5,15 (1,03)	6,00 (0,69)	5,99 (0,83)
60	20	6,79 (0,21)	5,86 (0,53)	7,39 (0,42)	6,23 (1,54)	6,42 (0,38)	4,26 (2,09)
00	25	5,91 (0,71)	3,66 (0,52)	6,56 (0,19)	4,10 (0,10)	6,36 (1,06)	4,48 (0,78)
	30	7,35 (0,88)	6,39 (0,20)	7,21 (0,49)	6,42 (0,89)	7,09 (0,65)	6,06 (0,38)
	15	4,49 (1,06)	2,61 (0,97)	5,54 (1,33)	3,89 (0,81)	6,18 (1,27)	5,39 (0,86)
00	20	6,94 (0,64)	4,78 (1,22)	7,39 (1,01)	5,33 (1,89)	5,96 (0,27)	5,32 (1,39)
00	25	4,08 (1,03)	3,42 (0,26)	6,56 (0,28)	3,57 (0,89)	5,82 (0,35)	3,02 (1,01)
	30	4,49 (0,11)	4,11 (0,63)	7,21 (0,89)	5,87 (0,17)	6,61 (0,64)	5,68 (0,23)

**Tabela 4 -** Conteúdo de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo LVd após 48 e 96 h da aplicação do (<sup>15</sup>NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em diferentes camadas (0-10, 10-20 e 20-30 cm) em quatro umidades (% da CMRA) e nas temperaturas de 15, 20, 25 e 30 °C. Os valores entre parênteses indicam o desvio padrão

#### 4.2 Taxa de mineralização bruta de N

Os valores da TMB foram relativamente reduzidos (menores que 2,5 mg kg<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> de N) para todos os tratamentos (Tabela 5) (Figuras 13 e 14). Estes resultados são semelhantes aos obtidos por outros autores como Pilbeam e Warren (1995); Luxhøi et al. (2003); Flavel et al. (2005). Segundo Videla et al. (2005), apesar da dificuldade nas comparações com outros trabalhos existentes na literatura, pelas diferenças entre tipos de solos, clima e sistema de manejo, deve-se destacar que as TMB geralmente não assumem valores maiores que 10 mg kg<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> de N. As TCB tiveram, em média, valores superiores à TMB, para os dois solos estudados. Videla (2004) afirma que valores de TCB maiores que os de TMB indicam que os processos de imobilização e nitrificação são os que possuem maior possibilidade de representar o consumo de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Os valores da TMB foram superiores nas camadas superficiais dos solos, comparativamente às camadas subjacentes, com o aumento da umidade, para os dois solos (LVd e LVe) (Figuras 13 e 14) e para as diferentes camadas, o que pode ter favorecido a mineralização de N proveniente da MOS, criando condições ideais para o desenvolvimento e atividade da microbiota do solo. De acordo com Orchard e Cook (1983), a umidade do solo tem efeitos importantes sobre a mineralização do N, pois determina diretamente a disponibilidade de água para a atividade e sobrevivência dos microrganismos. Skopp et al. (1990) afirmam que a umidade controla indiretamente a difusão de oxigênio no solo, determinando o volume de solo onde pode ocorrer atividade aeróbia. Por sua vez, a temperatura modifica diretamente a mineralização do N por controlar os processos bioquímicos e, indiretamente, por afetar o consumo de oxigênio pelos microrganismos e, como consequência, o volume aeróbio do mesmo (RENAULT; SIERRA, 1994).

Diante do mencionado anteriormente, é possível constatar que com o aumento da umidade do solo, irá ocorrer rápida mineralização da MOS de maior labilidade, disponibilizando grande conteúdo de N mineral as plantas, o que explica, em certos casos, a ausência de resposta a fertilização nitrogenada em alguns cultivos (PILBEAM; WARREN, 1995). A presença de importantes frações de C nas frações lábeis, que apresentam altas taxas de reciclagem (SÁ et al., 2001), pode explicar a alta taxa TMB e o consequente fornecimento de N do solo às plantas.

Com a redução na umidade, o que sugere que pode haver acúmulo de N inorgânico no solo durante períodos de seca. Além disso, o reumedecimento do solo seco parece estimular a mineralização e provocar um pico de liberação de N mineral, o que explica o estímulo ao crescimento das plantas após as chuvas que ocorrem depois de um período seco (VIDELA, 2004).

Pilbeam e Warren (1995) analisaram a MB em LATOSSOLO de textura arenosa no Quênia e observaram que na umidade de 25 % da CMRA a atividade dos microrganismos quimiorganotróficos, responsáveis pela conversão do N orgânico a N mineral, diminuiu sensivelmente, levando a uma consequente diminuição das TMB. Resultados semelhantes também foram reportados por Gava et al. (2002) em um LATOSSOLO de textura argilosa no estado de São Paulo.

A análise de variância em cada profundidade indicou uma interação entre temperatura e umidade na TMB em todas as camadas (Tabela 5), mostrando que para o solo LVe, as três camadas (0-10; 10-20; 20-30 cm) apresentaram comportamento semelhante com relação as quatro umidades e temperaturas avaliadas. Diante do observado, com o acréscimo na umidade a TMB também aumentou, sendo o pico de maior TMB (2,04 mg kg<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> de N) obtido na temperatura de 25 °C, umidade de 60 % da CMRA e profundidade de 0-10 cm. O solo LVd apresentou o mesmo padrão, porém com valor de TMB de 1,60 mg kg<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> de N. Esses resultados assemelham-se aos de Sierra (1997), que verificou o efeito da temperatura e umidade em solos temperados com características semelhantes, onde a temperatura foi o fator que explicou principalmente a mineralização líquida do N.

Apesar da impossibilidade da análise estatística relacionando as diferentes camadas de solo em função da ausência de independência entre as mesmas, foi observado que houve um importante efeito de estratificação, com maiores valores na superfície (0-10 cm), comparativamente às camadas subjacentes (10-20 e 20-30 cm), para ambos os solos. Os maiores valores de TMB obtidos na profundidade de 0-10 cm, devem-se possivelmente ao maior valor de C orgânico e N total (Tabela 1) dessa profundidade, em função do aporte anual de material orgânico, pela colheita da cana-de-açúcar. Este comportamento evidencia que os teores de C orgânico e N total podem estar relacionados com a TMB. Em maiores profundidades, a matéria orgânica apresenta-se mais recalcitrante, com maior proporção das substâncias húmicas (humina, ácidos húmicos e ácidos fúlvicos),

devido á baixa atividade microbiológica e menor taxa de entrada de material orgânico lábil.

As maiores TMB nas três profundidades (Tabela 5) foram obtidas nas umidades de 60 e 40 % CMRA, enquanto que na umidade de 80 % CMRA esta taxa diminui consideravelmente (Figura 13 e 14). Esta observação pode estar atrelada à diminuição da oxigenação do solo, diminuindo consequentemente a atividade microbiana e a mineralização de N.

Embora exista diferença na TMB entre os dois solos, não é possível indicar qual apresenta, em média, maior TMB em relação ao outro, em função da grande variabilidade nos valores deste parâmetro. Stevenson (1982) e Moreira e Siqueira (2002) demonstraram que a MOS ou resíduos de culturas são extremamente heterogêneos, e devido a muitos microrganismos serem especializados e só atuarem sobre determinados substratos, a conversão do N orgânico à N amônio é realizada por um grupo variado de bactérias, arqueias e fungos.

Zaman e Chang (2004) encontraram um valor máximo para TMB a 40 °C, sendo a temperatura o fator que teve uma influência dominante nos processos microbianos do solo, incluída a MB. Nos estudos de Sierra e Marban (2000) em solos tropicais e Fisk et al. (1998) em solos de tundra, entretanto, a temperatura não interferiu na mineralização de N, sendo a umidade do solo o principal fator. Contudo, Franzluebbers et al. (2001), analisando o efeito do clima nas frações ativas da MOS, encontraram resultados inconsistentes da umidade do solo na mineralização líquida a altas temperaturas.



Figura 13 - Isotermas da taxa de mineralização bruta (TMB) do solo LVe em função da variação da capacidade máxima de retenção de água (CMRA), nas temperaturas de 15, 20 25 e 30 °C. As funções ajustadas para as curvas da TMB, com os respectivos valores do coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>), estão apresentadas na Tabela 7 (Anexo 2)



Figura 14 - Isotermas da taxa de mineralização bruta (TMB) do solo LVd em função da variação da capacidade máxima de retenção de água (CMRA), nas temperaturas de 15, 20 25 e 30 °C. As funções ajustadas para as curvas da TMB, com os respectivos valores do coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>), estão apresentadas na Tabela 7 (Anexo 2)

		TMB (mg kg <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> de N)							
Umidade % da CMBA	15 ℃		20 °C		25 ℃		30 °C		
	LVe	LVd	LVe	LVd	LVe	LVd	LVe	LVd	
				0-10 cm					
30	0,130 bA*	0,240 bA	0,209 bA	0,304 aA	0,308 cA	0,204 cA	0,378 bA	0,399 aA	
40	0,169 bB	0,383 abAB	0,506 aA	0,373 aAB	0,332 cAB	0,405 cAB	0,581 abA	0,436 aAB	
60	0,472 aCD	0,595 aCD	0,598 aCD	0,350 aD	2,040 aA	1,599 aB	0,680 aC	0,449 aCD	
80	0,314 abC	0,296 bC	0,356 abC	0,230 aC	0,775 bA	0,754 bB	0,353 bC	0,283 aC	
				10-20 cm					
30	0,165 cB	0,223 aB	0,272 bAB	0,191 aB	0,202 dB	0,307 bcAB	0,319 bcAB	0,154 aA	
40	0,327 bABC	0,166 aC	0,354 abAB	0,293 aABC	0,362 cAB	0,457 bA	0,460 cBC	0,339 aAB	
60	0,501 aB	0,161 aD	0,473 aBC	0,306 aCD	1,135 aA	0,320 aA	0,617 aB	0,354 aBC	
80	0,123 cD	0,207 aCD	0,473 aB	0,228 aCD	0,706 bA	0,165 cD	0,423 bB	0,351 aBC	
				20-30 cm					
30	0,121 aB	0,197 aAB	0,196 aAB	0,320 aAB	0,169 bAB	0,372 bA	0,166 bAB	0,148 aAB	
40	0,200 aA	0,146 aA	0,186 aA	0,331 aA	0,368 bA	0,286 bA	0,366 abA	0,260 aA	
60	0,294 aB	0,339 aB	0,239 aB	0,222 aB	0,284 bB	0,678 aA	0,409 aB	0,233 aB	
80	0,200 aB	0,337 aB	0,231 aB	0,241 aB	0,825 aA	0,754 aA	0,366 abB	0,229 aB	

 Tabela 5 - Taxa de mineralização bruta de N (TMB) dos solos LVd e LVe relacionadas à umidade do solo (% da capacidade máxima de retenção de água - CMRA) e temperatura de incubação

\*: Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha e letras minúsculas diferentes na coluna, para cada camada de solo, diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Moreira e Siqueira (2002) afirmam que as condições ótimas para mineralização do N orgânico do solo são aquelas que favorecem a atividade dos microrganismos: pH entre 6 e 7, condições aeróbias, umidade de 50 a 70 % da CMRA, além de temperatura entre 40 e 60 °C. Foth e Ellis (1996) constataram que a taxa de mineralização aumenta de 2 a 3 vezes a cada 10 °C de elevação de temperatura no intervalo de 10 a 40 °C, indicando que o processo é bastante sensível à variações de temperatura. Resultados semelhantes no presente estudo corroboraram com os dados de Moreira e Siqueira (2002), porém a temperatura ótima de mineralização encontrada foi de 25 °C sendo que a 30 °C apresentou efeito deletério para ambos os solos (Figura 13 e 14).

O comportamento da TCB apresentou mesmo padrão que o observado para TMB, mas com valores médios superiores. O maior valor médio de TCB  $(2,26 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1})$  foi obtido na temperatura de 25 °C com 60 % da CMRA (Figura 15 e 16) as mesmas condições ótimas para a mineralização bruta do N nesse solo. Os processos de imobilização-mineralização representam um subciclo dentro do ciclo de N no solo. A prevalência de um sobre o outro, ou seja, o resultado líquido de processos concorrentes define se o solo terá maior ou menor disponibilidade de N inorgânico para aos vegetais. Analisando os resultados deste estudo, nota-se que pouco N-NH4<sup>+</sup> ficaria disponível às plantas, pois, na maioria dos casos, a TCB foi superior à TMB, indicando que o N-NH4<sup>+</sup> oriundo da mineralização da MOS foi consumido por um ou mais processos. O provável destino deste N-NH4<sup>+</sup> foi nitrificação (síntese de NO<sub>3</sub>-), que pode ser absorvido pelo sistema radicular das plantas ou ainda imobilizado pelos microrganismos do solo. Em caso de prevalência da imobilização microbiana do N, as plantas de cana-de-açúcar poderiam apresentar deficiência de N caso a aplicação suplementar de fertilizante nitrogenado não seja feita.



Figura 15 - Taxa de mineralização bruta (TMB) e taxa de consumo bruto (TCB) dos solos LVe e LVd, nas camadas de 0-10, 10-20 e 20-30 cm, sob incubação de 15 e 20 °C



Figura 16 - Taxa de mineralização bruta (TMB) e taxa de consumo bruto (TCB) dos solos LVe e LVd, nas camadas de 0-10, 10-20 e 20-30 cm, sob incubação de 15 e 20 ℃

#### 4.3 Modelagem da mineralização bruta de N em condições de campo

Analisando-se os dados de temperatura do solo (Figura 7), é possível verificar que houve pouca variação entre as profundidades de instalação dos geotermômetros, sendo que no período mais quente (novembro a abril), as variações ficaram em torno de 20 a 25°C, apresentando relativa queda nos meses de maio a junho. Esta pequena flutuação de temperatura deve-se em parte, aos resíduos de cana-de-açúcar deixados após a colheita mecanizada sem despalha a fogo, que formam um protetor térmico do solo. Timm (2002) ao estudar diferentes manejos aplicados à cana-de-açúcar e sua relação com a temperatura do solo, indicou que a presença de cobertura vegetal após a colheita reduziu picos de temperatura, mantendo-a mais constante ao longo dos dias.

Os dados de % da CMRA (Figura 8) apresentaram comportamento semelhante para os dois solos (LVd e LVe) e camadas (0-20 e 20-40 cm). A partir de maio foi observada uma pequena queda nos valores de % da CMRA, possivelmente pela menor intensidade de chuvas que ocorre a partir deste mês e extense-se até outubro. Os valores de % da CMRA ficaram em torno de 40 a 55 na profundidade de 0-20 cm no solo LVe e 55 a 63 na profundidade 20-40 cm. Para o LVd os valores foram inferiores ao LVe, evidenciando um deficit hídrico mais acentuado, ficando em torno de 44 a 51 na profundidade de 0-20 cm e na profundidade de 20-40 cm os valores ficaram em torno de 45 a 59 % da CMRA.

A TMB acompanhou as variações de temperatura e umidade do solo (Figura 17), sendo que com os maiores valores destes parâmetros foram obtidos os maiores valores de TMB. Desse modo, nos meses de novembro a fevereiro, época de maior temperatura e precipitações atmosféricas historicamente registradas no estado de São Paulo, é o período onde o solo irá fornecer a maior quantidade de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> para a cultura da cana-de-açúcar, favorecendo, assim, o desenvolvimento vegetativo da cultura. O solo LVe apresentou maior TMB em relação ao LVd, explicado provavelmente pelo primeiro solo apresentar umidade maior (Figura 17), fato que interfere diretamente na TMB, como apresentado no item 4.1 deste trabalho. Com relação à TMB entre as camadas de solo, a camada superficial (0-10 cm) apresentou valor de TMB superior às demais. Este fato ficou mais evidenciado para o solo LVe, enquanto que no LVd a diferença é menos perceptível.



Figura 17 - Simulação da variação da taxa de mineralização bruta de nitrogênio (TMB) em condições de campo para o solo LVe (a) e LVd (b), no período de novembro de 2009 a junho de 2010

Leite (2011) ao estudar a absorção de N pela cana-de-açúcar nos mesmos ensaios utilizados pelo presente estudo observou que o primeiro solo acumulou mais N logo após a adubação (outubro de 2009). Este fato se deve, provavelmente, às condições climáticas que resultaram em pequeno déficit hídrico no fim de novembro para o LVd e resultou consequentemente em menor TMB. Leite (2011) ainda verificou que no período de outubro de 2009 a fevereiro de 2010 a cana-de-açúcar apresentou grande extração de N, coincidindo com os maiores valores de TMB encontrados neste trabalho. De acordo com Orchard e Cook (1983), a umidade do solo tem efeitos importantes sobre a mineralização do N, pois determina diretamente

a disponibilidade de água para a atividade e sobrevivência dos microrganismos. A umidade controla indiretamente a difusão de oxigênio no solo, determinando o volume de solo onde pode ocorrer atividade aeróbia (SKOPP et al., 1990).

Mariano (2010) avaliando a disponibilidade de diferentes fontes minerais e orgânicas de N nos solos LVd e LVe na safra 2009/2010, observou baixos valores de N disponível no solo após 60 dias da fertilização nitrogenada, que foi atribuído a dois destinos: imobilização microbiana e/ou absorção pelo sistema radicular da cultura. Como a TMB indica o potencial real de fornecimento de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> pelo solo por meio do processo de amonificação, possivelmente todo o N mineralizado e disponibilizado á cultura durante a época de maior demanda de N pela cultura foi absorvido pelas raízes das plantas.

A alta capacidade de mineralização de N do solo evidentemente leva à diminuição na resposta das culturas à adubação nitrogenada. Alguns autores já mostraram a resposta das culturas à adubação nitrogenada (BLACK et al., 1946; PRITCHETT et al., 1947; FITTS et al., 1953; OLSON et al., 1960). Com o uso do traçador <sup>15</sup>N, diversos estudos indicaram que a mineralização do N do solo muitas vezes fornece a maior parte do N absorvido pelas culturas (TAKAHASHI, 1964; OLSON et al., 1979; WILSON et al., 1989; SCHINDLER; KNIGHTON, 1999; STEVENS et al., 2005; LÓPEZ-BELLIDO et al., 2006; SILVA et al., 2006; DOURADO-NETO et al., 2010; FRANCO et al., 2011).

Otto (2012) ao analisar o impacto da mineralização de N na resposta a adubação nitrogenada em 6 diferentes ambientes de produção de cana-de-açúcar, notou que 4 sítios experimentais foram responsivos à fertilização nitrogenada. Otto (2012) também avaliou a resposta à adubação com N no LVd, solo utilizado neste trabalho, porém verificou que não houve aumento de produtividade com a adição de doses de N-fertilizante em soqueira de cana-de-açúcar. Rossetto et al. (2010), por exemplo, relataram alta resposta ao N aplicado em cana-de-açúcar em 10 de 15 locais estudados, enquanto que um local não apresentou resposta e em outros quatro locais, apesar de significativa, a resposta foi pouco pronunciada. Dessa forma, a alta resposta à fertilização nitrogenada em cana-de-açúcar ocorre em condições de baixa taxa de mineralização do N.



Figura 18 - Simulação do acúmulo de mineralização bruta de nitrogênio (MB) em condições de campo para o solo LVe (a) e LVd (b), no período de novembro de 2009 a junho de 2010

Desse modo, solos com baixos valores de TMB tendem a apresentar maior resposta ao N aplicado, enquanto que solos com altos índices de TMB podem responder positivamente ao N-fertilizante adicionado ao solo. Embora o maior teor de N total possa representar um maior reservatório de N no solo, a correlação este atributo e índices para estimativa do N mineralizável e a absorção de N por plantas é fraca ou mesmo inexistente. Assim, o maior potencial de mineralização de N pelo solo (por exemplo, a mineralização bruta) possivelmente estão relacionados a frações da MOS com alta labilidade, como aminoaçúcares (MULVANEY et al., 2001). A identificação de frações do N-orgânico que atuam ativamente na ciclagem desse nutriente é de grande importância.

A MB acumulada no período de novembro de 2009 a junho de 2010 (Figura 18), mostra que o LVe disponibilizou maior quantidade de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ao solo pela

amonificação em relação ao LVd. Na profundidade de 0-10 cm a mineralização bruta de N atingiu valores de 12,8 mg kg<sup>-1</sup> para o LVe e 8,1 mg kg<sup>-1</sup> para o LVd. Assim, é possível observar o maior potencial de amonificação do LVe em relação LVd. Na profundidade de 10-20 cm, a MB acumulada atingiu valores de 8,9 mg kg<sup>-1</sup> para o LVe, enquanto que para o LVd estes valores chegaram a 7,4 mg kg<sup>-1</sup>. Na camada de 20-30 cm, a MB para o LVe foi de 8,5 mg kg de solo<sup>-1</sup> para o LVd este valor foi de 6,9 mg kg<sup>-1</sup>.

Convertendo-se esses valores de MB para kg ha<sup>-1</sup>, nos 8 meses de simulação (novembro de 2009 a junho de 2010), o LVe e LVd, apresentaram, respectivamente, valores de 133 e 91 kg ha<sup>-1</sup> N. Esse valor de amonificação bruta no LVe supriria toda a demanda de N pela cultura da cana-de-açúcar em um ciclo de desenvolvimento, excluindo-se os outros possíveis destinos do N no solo (imobilização, volatilização, nitrificação e desnitrificação). Nos estudos de Leite (2011) e Oliveira (2011), por exemplo, a extração de N pela cultura foi de 150 kg ha<sup>-1</sup> durante todo seu ciclo, independente da fonte de N utilizada como fertilizante, confirmando mais uma vez que uma das possíveis causas do reduzido aproveitamento de fertilizantes nitrogenados pela cultura se deve ao N fornecido pelo solo durante o processo de mineralização. O fato de o LVe ter apresentado maior TMB pode ser explicado pela maior umidade do solo para esse local comparativamente ao LVd, já que este local exibiu maior déficit hídrico em novembro de 2009 (LEITE, 2011).

Assim, a MB estimada pela técnica de diluição do "*pool*" amônio do solo (<sup>15</sup>NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) aparenta ser uma técnica eficaz na determinação da taxa de amonificação no solo, sendo uma importante ferramenta para o manejo da fertilização nitrogenada na cultura da cana-de-açúcar.

Para pesquisas futuras que visem avaliar a MB por modelagem matemática dos valores da TMB obtidos em laboratório juntamente com a leitura e determinação da temperatura e umidade do solo, respectivamente, é altamente recomendável a escolha de sítios experimentais próximos, para a garantia da coleta dos dados de campo em períodos próximos (semanalmente ou quinzenalmente), para maior reprodução das condições edafoclimáticas originais do local. Do mesmo modo, a possível quantificação da MB diretamente *in situ* também é uma medida interessante, visando evitar alterações na microbiologia do solo em função dos processos de secagem e reumedecimento que ocorrem em amostras secas ao ar e incubadas.

## **5. CONCLUSÕES**

- A metodologia de diluição do "*pool*" <sup>15</sup>NH<sub>4</sub><sup>+</sup> permitiu a determinação da TMB e TCB nos dois solos (LVd e LVe), com decréscimo nos valores de TMB e TCB em função da maior profundidade do solo;
- A umidade e a temperatura influenciaram nos valores de TMB e TCB obtidos em condição de laboratório, com maiores valores para estes índices na temperatura de 25 ℃ e umidade de 60 % da CMRA;
- Na maior parte das condições avaliadas, as quantidades totais consumidas de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> superaram aquelas mineralizadas;
- A modelagem matemática da TMB no campo permitiu a identificação da época de maior liberação de N-NH4<sup>+</sup> no solo, que coincide com a fase de maior extração de N em função do desenvolvimento da cana-de-açúcar de ano e meio.
## REFERÊNCIAS

ARSHAD, M. A.; FRANZLUEBBERS, A. J.; AZOOZA, R. H. Components of surface soil structure under conventional and no-tillage in northwestern Canada. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 53, p. 41-47, 1999.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS. Anuário estatístico do setor de fertilizantes. São Paulo: ANDA, 2010.

BARRACLOUGH, D. The direct or MIT route for nitrogen immobilization: A <sup>15</sup>N mirror image study with leucine and glycine. **Soil Biology & Biochemistry,** Oxford, v. 29, p. 101-108, 1997.

BARRACLOUGH, D.; GEENS, E. L.; DAVIES, G. P.; MAGGS, J. M. Fate of fertilizer nitrogen. 3. The use of single and double labeled N-15 ammonium-nitrate to study nitrogen uptake by ryegrass. **Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 36, p. 593-603, 1985.

BARRACLOUGH, D.; PURI, G. The use of <sup>15</sup>N pool dilution and enrichment to separate the heterotrophic and autotrophic pathways of nitrification. **Soil Biology & Biochemistry,** Oxford, v. 27, p. 17-22, 1995.

BARRIE, A.; PROSSER, S. J. Automated analysis of light-element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry. In: BOUTTON, T. W.; YAMASAKI, S. (Ed.). **Mass spectrometry of soils.** New York: Marcel Dekker, 1996. p. 1-46.

BASANTA, M. V.; DOURADO-NETO, D.; REICHART, K.; BACCHI, O. O. S.; OLIVEIRA, J. C. M.; TRIVELIN, P. C. O.; TIMM, L. C.; TOMINAGA, T. T.; CORRECHEL, V.; CASSARO, F. A. M.; PIRES, L. F.; MACEDO, J. R. Management effects of nitrogen recovery in a sugarcane crop grown in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 116, p. 235-248, 2003.

BODDEY, R. M.; POLIDORO, J. C.; RESENDE, A. S.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. Use of the <sup>15</sup>N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N<sub>2</sub> fixation to sugar cane and other grasses. **Australian Journal of Plant Physiology,** Melbourne, v. 28, p. 1-7, 2003.

BÖRJESSON, P. Good or bad bioethanol from a greenhouse gas perspective: what determines this? **Applied Energy**, London, v. 86, p. 589-594, 2009.

BLACK, C. A.; NELSON, L. B.; PRITCHETT, W. L. Nitrogen utilization by wheat as affected by rate of fertilization. **Soil Science Society America Proceedings**, Madison, v. 11, p. 393-396, 1946.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Produção e Agroenergia **Plano nacional de agroenergia:** 2006-2011. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 118 p.

BROWN, P. L.; DICKEY, D. D. Losses of wheat straw residue under simulated field conditions. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 34, p. 118-121, 1970.

CAMARGO, F. A. O.; SÁ, E. L. S. Nitrogênio e adubos nitrogenados. In: BISSANI, C. A.; GIANELO, C.; TEDESCO, MARINO, J.; CAMARGO, F. A. O. **Fertilidade dos solos e manejo da adubação de culturas**. Porto Alegre: Gênesis, 2004. p. 93-116.

CAMARGO, P. B. Dinâmica do nitrogênio dos fertilizantes uréia (<sup>15</sup>N) e aquamônia (15N) incorporados ao solo na cultura de cana-de-açúcar. 1989. 104 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1989.

CAMPBELL, C. A.; MYERS, R. J. K.; WEIER, K. L. Potentially mineralizable nitrogen, decomposition rates and their relationship to temperature for five Queensland soils. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 19, p. 323 -332, 1981.

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

CANTARELLA, H.; ABREU, C. A.; BERTON, R. S. Fornecimento de nutrientes pela matéria orgânica do solo. In: ENCONTRO SOBRE MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO, 1., 1992, Botucatu. **Resumos...** Botucatu: UNESP, 1992. p. 63-122.

CANTARELLA, H.; LERA, F. L.; BOLONHEZI, D.; LARA CABEZAS, W. A. R.; TRIVELIN, P. C. O. Antecipação de N em milho em sistema de plantio direto usando <sup>15</sup>N-uréia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 29., 2003, Ribeirão Preto. **Resumos...** Botucatu: UNESP, 2003.

CARNEIRO, A. E. V.; TRIVELIN, P. C. O.; VICTORIA, R. L. Utilização da reserva orgânica e de nitrogênio do tolete de plantio (colmo-semente) no desenvolvimento da cana planta. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, p. 199–209, 1995.

CARPENTER-BOGGS, L.; PIKUL JUNIOR, J. L.; VIGIL, M. F.; RIEDELL, W. E. Soil nitrogen mineralization influenced by crop rotation and nitrogen fertilization. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 64, p. 2038-2045, 2000.

COALE, F. J.; SANCHEZ, C. A.; IZUNO, F. T.; BOTTCHER, A. B. Nutrient accumulation and removal by sugar cane grown on everglades histosols. **Agronomy Journal**, Madison, v. 85, p. 310-315, 1993.

COMPANHA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar, safra 2010/2011; terceiro levantamento. Brasília, DF: CONAB, 2011. 18 p.

DAVIDSON, E. A.; HART, S. C.; SHANKS, C. A.; FIRESTONE, M. K. Measuring gross mineralization, immobilization and nitrification by <sup>15</sup>N isotopic pool dilution in intact soil cores. **Journal of Soil Science**, Oxford, v. 42, p. 335-349, 1991.

DICK, W. A. Organic carbon, nitrogen and phosphorus concentrations and pH in soil profiles as affected by tillage intensity. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 47, p. 102-107, 1983.

DORAN, J. W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 44, p. 765-771, 1980.

DOURADO-NETO, D.; POWLSON, D.; ABU BAKAR, R.; BACCHI, O. O. S.; BASANTA, M. V.; THI CONG, P.; KEERTHISINGHE, G.; ISMAILI, M.; RAHMAN, S. M.; REICHARDT, K.; SAFWAT, M. S. A.; SANGAKKARA, R; TIMM, L. C.; WANG, J. Y.; ZAGAL, E.; KESSEL, C. van. Multiseason recoveries of organic and inorganic nitrogen-15 in tropical cropping systems. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 74, p. 139-152, 2010.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306 p.

FACRE, W. R. Três formas de fertilizantes nitrogenados e o futuro. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 120, p. 5-6, 2007.

FAO. Disponível em: <http://www.fao.org.br/>. Acesso em: 26 fev. 2012.

FITTS, J. W.; BARTHOLOMEW, W. V.; HEIDEL, H. Correlation between nitrifiable nitrogen and yield response of corn to nitrogen fertilization on Iowa soils. **Soil Science Society America Proceedings**, Madison, v. 17, p. 119-122, 1953.

FLAVEL, T. C.; MURPHY, D. V.; LALOR, B. M.; FILLERY, I. R. P. Gross N mineralization rates after application of composted grape marc to soil. **Soil Biology & Biochemistry,** Oxford, v. 37, p. 1397-1400, 2005.

FOTH, H. D.; ELLIS, B. G. Soil fertility. 2. ed. Boca Raton: Lewis, 1996. 290 p.

FRANCO, H. C. J.; OTTO, R.; FARONI, C. E.; VITTI, A. C.; OLIVEIRA, E. C. A.; TRIVELIN, P. C. O. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 121, p. 29-41, 2011.

GAVA G. J. C. **Compartimentalização do nitrogênio no sistema solo-planta na implantação da semeadura direta no ciclo da cultura do milho.** 2003. 126 f. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

GAVA, G. J. C.; TRIVELIN, P. C. O.; VITTI, A. C.; TEIXEIRA, G. M. Efeito da umidade do solo na taxa bruta de mineralização do nitrogênio. In: INTERNATIONAL NUCLEAR ATLANTIC CONFERENCE, 2002, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: IEN, 2002.

GHIBERTO P. J. Lixiviação de nutrientes em um Latossolo cultivado com canade-açúcar. 2010. 158 f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010. HART, S. C.; STARK, J. M.; DAVIDSON, E. A.; FIRESTONE, M. K. Nitrogen mineralization, immobilization and nitrification. In: BIGHAM, J. M. (Ed.). **Methods of soil analysis.** II. Microbiological and biochemical properties. Madison: SSSA, 1994. p. 985-1017.

HAUCK, R. D.; TANJI, K. K. Nitrogen transfers and mass balance. In: STEVENSON, F. J.; BREMNER, J. M.; HAUCK, R. D.; KEENEY, D. R. (Ed.). **Nitrogen in agricultural soils**. Madison: ASA, 1982. p. 891-925. (Agronomy Series, 22).

HOOD, R. C.; WOOD, M. Estimating gross mineralization of Alnus glutinosa residues, using <sup>15</sup>N mirror image experimentation. In: VAN CLEEMPUT, O.; HOFMAN, G. VERMOESEN, A. (Ed.). **Progress in nitrogen cycling studies.** Ghent: University of Ghent, 1996. p. 53-56.

JANZEN, H. H.; KUCEY, R. M. N. Carbon, nitrogen and sulfur mineralization of crop residues as influenced by crop species and nutrient regime. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 106, p. 35-41, 1988.

JARVIS, S. C.; STOCKDALE, E. A.; SHEPHERD, M. A.; POWLSON, D. S. Nitrogen mineralization in temperature agricultural soils: processes and measurement. **Advances in Agronomy,** San Diego, v. 57, p. 187-235, 1996.

JUNIOR, A. C. G.; LUCHESE, E. B.; LENZI, E. Avaliação da fitodisponibilidade de cádmio, chumbo e crômio, em soja cultivada em latossolo vermelho escuro tratado com fertilizantes comerciais. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, p. 173-177, 2000.

KENNEY, D. R.; NELSON, D. W. Nitrogen: inorganic forms. In: PAGE, A. L. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2. ed. Madison: ASA, 1982. p. 643-698.

KIRKHAM, D.; BARTHOLOMEW, W. V. Equations for following nutrient transformations in soil, utilizing tracer data. Soil Science Society of America **Proceedings**, Madison, v. 18, p. 33-34, 1954.

LAGREID, M.; BOCKMAN, O. C.; KAARSTAD, O. Agriculture fertilizers and the environment. Wallingford: CABI, 1999. 294 p.

LEITE J. M. Acúmulo de fitomassa e de macronutrientes da cana-de-açúcar relacionadas ao uso de fontes de nitrogênio. 2011. 91 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

LÓPEZ-BELLIDO, L.; LÓPEZ-BELLIDO, R. J.; LÓPEZ-BELLIDO. F. J. Fertilizer nitrogen efficiency in durum wheat under rainfed Mediterranean conditions. **Agronomy Journal**, Madison, v. 98, p. 55-62, 2006.

LUCE, M. S.; WHALEN, J. K.; ZIADI, N.; ZEBARTH, B. Nitrogen dynamics and indices to predict soil nitrogen supply in humid temperate soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 112, p. 55-102, 2011.

LUO, L.; VAN DER VOET, E.; HUPPES, G. Life cycles assessment and life cycle costing of bioethanol from sugarcane in Brazil. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, Oxford, v. 13, p. 1613-1619, 2009.

LUXHØI, J.; NIELSEN, N. E.; JENSEN, L. S. Influence of <sup>15</sup>NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-application on gross N turnover rates in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 35, p. 603-606, 2003.

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

MARIANO, E. **Mineralização e disponibilidade de nitrogênio em solos cultivados com cana-de-açúcar**. 2010. 92 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

MARTENS, D. A. Nitrogen cycling under different soil management systems. Advances in Agronomy, San Diego, v. 70, p. 143-192, 2000.

MATAR, A. E.; BECK, D. P.; PALA, M.; GARABET, S. Nitrogen mineralization potentials of selected mediterranean soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 22, p. 23-36, 1991.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo.** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2002. 626 p.

MULVANEY, R. L.; KHAN, S. A.; HOEFT, R. G.; BROWN, H. M. A soil organic nitrogen fraction that reduces the need for nitrogen fertilization. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 1164–1172, 2001.

MURPHY, D. V.; RECOUS, S.; STOCKDALE, E. A.; FILLERY, I. R.; JENSEN, L. S.; HATCH, D. J.; GOULDING, K. W. T. Gross nitrogen fluxes in soil: theory, measurement and application of <sup>15</sup>N pool dilution techniques. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 79, p. 69-118, 2003.

MYERS, R. J. K.; PALM, C. A.; CUEVAS, E.; GUNATILLEKE, I. U. N.; BROSSARD, M. The synchronisation of nutrient mineralisation and plant nutrient demand. In: WOOMER, P. L.; SWIFT, M. J. (Ed.). **The biological management of tropical soil fertility**. New York: Wiley-Sayce, 1994. p. 81-112.

NISHIO, T.; KANAMORI, T.; FUJIMOTO, T. Nitrogen transformations in an anaerobic soil as determined by <sup>15</sup>NH4 dilution technique. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 17, p. 149-154, 1987.

NORTON, J. M. Nitrogen mineralization immobilization turnover. In: SUMMER, M. E. (Ed.). **Handbook of soil science**. Boca Raton, CRC Press, 2000. p. 148-160

OLIVEIRA, E. C. A. Balanço nutricional da cana-de-açúcar relacionada à adubação nitrogenada, 2011. 213 f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

OLSON, R. A.; MEYER, M. W.; LAMKE, W. E.; WOLTEMATH, A. D.; WEISS, R. E. Nitrate production rate as a soil test for estimating nitrogen requirements of cereal crops. **Transaction of 7th International Congress of Soil Science**, Madison, v. 2, p. 463-470, 1960.

OLSON, R. V.; MURPHY, L. S.; MOSER, H. C.; SWALLOW, C. W. Fate of tagged fertilizer nitrogen applied to winter wheat. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 43, p. 973-975, 1979.

ORCHARD, V. A.; COOK, F. J. Relationship between soil respiration and soil moisture. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 15, p. 447-453, 1983.

ORLANDO FILHO, J. **Nutrição e adubação da cana-de-açúcar no Brasil.** Piracicaba: IAA/PLANALSUCAR, 1983. 369 p.

ORLANDO FILHO, J.; ZAMBELLO JUNIOR, E. Influência da adubação N-P-K nas qualidades tecnológicas da cana-planta variedade CB41-76. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 96, p. 37-44, 1980.

OTTO R. Desenvolvimento radicular e produtividade da cana-de-açúcar relacionados à mineralização do N do solo e à adubação nitrogenada. 2012. 118 f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

PALM, C. A.; SANCHEZ, P. A. Nitrogen release from the leaves of some tropical legumes as affected by their lignin and polyphenolic contents. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 23, p. 38-88, 1991.

PARKER, D. T.; LARSON, W. T.; BARTHOLOMEW, W. V. Studies on nitrogen tie-up as influenced by location of plant residues in soils. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 21, p. 608-612, 1957.

PILBEAM, C. J.; WARREN, G. P. Use of <sup>15</sup>N for fertilizer N recovery and N mineralization studies in semiarid Kenya. **Fertilizer Research**, Oxford, v. 42, p. 123-128, 1995.

PRASERTSAK, P.; FRENEY, J. R.; DENMEAD, O. T.; SAFFIGNA, P. G.; PROVE, B. G.; REGHENZANI, J. R. Effects of fertilizer placement on nitrogen loss from sugarcane in tropical Queensland. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, London, v. 62, p. 229-239, 2002.

PRITCHETT, W. L.; BLACK, C. A.; NELSON, L. B. Mineralizable nitrogen in soils in relation to the response of oats to nitrogen fertilization. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 12, p. 327-331, 1947.

RAISON, R. J.; CONNEL, J. J.; KHANNA, P. K. Methodology for studying fluxes of soil mineral-N in situ. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 19, p. 521-530, 1987.

RECOUS, S.; AITA, C.; MARY B. In situ changes in gross N transformations in bare soil after addition of straw. **Soil Biology & Biochemistry,** Oxford, v. 31, p. 119-133, 1999.

RENAULT, P.; SIERRA, J. Modelling oxygen diffusion in aggregated soils: II Anaerobiosis in topsoil layers. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 58, p. 1023-1030, 1994.

ROSSETTO, R.; DIAS, F. L. F.; LANDELL, M. G. A.; CANTARELLA, H.; TAVARES, S.; VITTI, A. C.; PERECIN, D. N and K fertilization of sugarcane ratoons harvested without burning. **Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technology**, Veracruz, v. 27, p. 1-8, 2010.

ROCHA, F. A.; MARTINEZ, M. A.; MATOS, A. T.; CANTARUTTI, R. B.; SILVA, J. O. Modelo numérico do transporte de nitrogênio no solo. Parte II: Reações biológicas durante a lixiviação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 12, p. 54-61, 2008.

SCHIMEL, D. S. Carbon and nitrogen turnover in adjacent grassland and cropland ecosystems. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 2, p. 345-357, 1986.

SCHINDLER, F. V.; KNIGHTON, R. E. Fate of fertilizer nitrogen applied to corn as estimated by the isotopic and difference methods. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 63, p. 1734-1740, 1999.

SILGRAM, M.; SHEPHERD, M. A. The effects of cultivation on soil nitrogen mineralization. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 65, p. 267-311, 1999.

SILVA, E. C.; MURAOKA, T.; BUZETTI, S.; TRIVELIN, P. C. O. Manejo de nitrogênio no milho sob plantio direto com diferentes plantas de cobertura, em Latossolo vermelho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 41, p. 477-486, 2006.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Principal components analysis in the software Assistat - Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7., 2009, Reno. **Abstracts...** St. Joseph: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SKOPP, J.; JAWSON, M. D.; DORAN, J. W. Steady-state aerobial microbial activity as a function of soil water content. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 54, p. 1619-1625, 1990.

SØRENSEN, P.; JENSEN, E. S. Sequential diffusion of ammonium and nitrate from soil extracts to a polytetrafluoroethylene trap for <sup>15</sup>N determination. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 252, p. 201-203, 1991.

SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M. S. (Org.). Nutrição mineral de plantas. Viçosa: SBCS, 2006. v. 1, p. 215-252.

SOUZA, C. C.; OLIVEIRA, F. A.; SILVA, I. F.; NETO, M. S. A. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 4, p. 338-342, 2000.

SPARLING, G. P.; MURPHY, D. V.; THOMPSON, R. B.; FILLERY, I. R. P. Shortterm net N mineralization from plant residues and gross and net N mineralization from soil organic matter after rewetting of a seasonally dry soil. **Australian Journal** of Soil Research, Melbourne, v. 33, p. 961-973, 1995.

STANFORD, G.; SMITH, S. J. Nitrogen mineralization potentials of soils. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 36, p. 465-472, 1972.

STARK J. M.; FIRESTONE, M. K. Mechanisms for soil moisture effects on activity of nitrifying bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, p. 218-221, 1995.

STEVENS, W. B.; HOEFT, R. G.; MULVANEY, R. L. Fate of nitrogen-15 in a long term nitrogen rate study: I. Interactions with soil nitrogen. **Agronomy Journal**, San Diego, v. 97, p. 1037-1045, 2005.

STEVENSON, F. J. Origin and distribution of nitrogen in soil. In: STEVENSON, F. J.; BREMNER, J. M.; HAUCK, R. D.; KEENEY, D. R. (Ed.). **Nitrogen in agricultural soils**. Madison: ASA, 1982. p. 891-925. (Agronomy Series, 22).

STRONG, D. T.; FILLERY, I. R. P. Denitrification response to nitrate concentrations in sandy soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 24, p. 945-954, 2002.

TAKAHASHI, D. T. N. 15-nitrogen field studies with sugarcane. **Hawaiian Plant Rec**. Honolulu, v. 57, p. 198-222, 1964.

TIMM L. C. Efeito do manejo da palha da cana-de-açúcar nas propriedades físico-hídricas de um solo. 2002. 127 f. Tese (Doutorado em Irrigação e Drenagem) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

TRIVELIN, P. C. O.; OLIVEIRA, M. W.; VITTI, A. C.; GAVA, G. J. C.; BENDASSOLLI, J. A. Perdas de nitrogênio da uréia no sistema solo-planta em dois ciclos de canade-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, p. 193-201, 2002.

TRIVELIN, P. C. O.; VICTORIA, R. L.; RODRIGUES, J. C. S. Aproveitamento por soqueira de cana-de-açúcar de final de safra do nitrogênio da aquamônia-<sup>15</sup>N e uréia-<sup>15</sup>N aplicado ao solo em complemento à vinhaça. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 30, p. 1375-1385, 1995.

UNIAO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR. **Safra 2010/2011**, Disponível em: <a href="http://www.unica.com.br/opiniao/show.asp?msgCode=D4975F4F-9953-4541-8C87-980E462214CD">http://www.unica.com.br/opiniao/show.asp?msgCode=D4975F4F-9953-4541-8C87-980E462214CD</a>. Acesso em: 20 nov. 2011.

VIDELA, C. C.; PAZOS, A.; TRIVELIN, P. C. O.; ECHEVERRÍA, H. E.; STUDDERT, G. A. Mineralización bruta de nitrógeno bajo labranza convencional, siembra directa y pastura. **Ciencia del Suelo**, Salamanca, v. 23, p. 133-144, 2005.

VIDELA, C. D. C. Mineralização bruta do nitrogênio em um Molisol do sudeste da Província de Buenos Aires (Argentina). 2004 124 f. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

VITTI, A. C.; TRIVELIN, P. C. O.; GAVA, G. J. C.; PENATTI, C. P.; BOLOGNA, I. R.; FARONI, C. E.; FRANCP, H. C. J. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada ao nitrogênio residual da adubação e do sistema radicular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, p. 249-256, 2007.

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

WILSON JUNIOR, C. E.; NORMAN, R. J.; WELLS, B. R. Seasonal uptake patterns of fertilizer nitrogen applied in split applications to rice. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 53, p. 1884–1887, 1989.

ZAMAN, M.; CHANG, S. X. Substrate type, temperature, and moisture content affect gross and net mineralization and nitrification rates in agroforestry systems. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 39, p. 269-279, 2004.

ZAK, D. R.; HOLMES, W. E.; MacDONALD, N. W.; PREGITZER, K. S. Soil temperature, matric potential, and the kinetics of microbial respiration and nitrogen mineralization. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 63, p. 575-584, 1999.

ANEXOS

Anexo A - Ajuste do tempo de agitação durante o processo de microdifusão

Adicionalmente aos resultados apresentados anteriormente, também foram realizados ensaios para o ajuste da metodologia de microdifusão (BROOKES et al., 1989), onde foi testado o tempo de agitação necessário para a difusão do N presente na solução para os discos de papel de microfibra (Whatman GF/D) contendo 10 µL de solução de KHSO<sub>4</sub> 2,5 mol L<sup>-1</sup>, os quais foram selados em fita de politetrafluoroetileno (PTFE). Para tal, foi preparada uma solução de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> com concentração de aproximadamente 16 µg mL<sup>-1</sup>de N, sendo que cada parcela recebeu 82 µg de N em 100 ml de solução. Logo após, foram adicionados os discos de papel de microfibra acidificados e foi adicionado 0.2 g de MgO calcinado ao extrato. Foram testados quatro tempos de agitação (24, 48, 72 e 96 h), e em cada tempo foram analisadas cinco amostras contendo solução (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e cinco amostras contendo apenas 100 mL de água desionizada (branco reagente), com o intuito de verificar a ocorrência de contaminação cruzada. Depois da microdifusão, removida a fita de PTFE, os filtros foram secos em um dessecador por 48 h e colocados em cápsulas de estanho para serem levados para determinação da abundância isotópica de <sup>15</sup>N em espectrômetro de massas (ANCA GSL, Sercon Inc., Crewe, GBR).

O tempo de agitação de 24 h apresentou menor quantidade de N recuperado pelo disco de microfibra acidificado com KHSO<sub>4</sub> 2,5 mol L<sup>-1</sup> comparativamente aos demais tratamentos (Tabela 6). Este resultado pode ser explicado pela incompleta difusão do N-NH<sub>3</sub> para o interior da armadilha acidificada de PTFE durante este período. É interessante notar que a partir de 48 h de agitação, os valores de N recuperado são mantidos, indicando que a recuperação máxima do N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> foi alcançada (média de 79,1 %). Estes resultados concordam os com obtidos por Sørensen e Jensen (1991), onde os autores encontraram elevada recuperação do N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> após 48 e 72 h de agitação, respectivamente.

Embora a estabilização do N difundido para o disco de microfibra de vidro tenha ocorrido em 48 h, a eficiência do método em recuperar todo o N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> adicionado como (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> foi inferior à obtida por Sørensen & Jensen (1991), que verificaram recuperação de 96 a 99 %. A redução na eficácia do método em reter o N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> nos discos acidificados pode ser explicada pela possível aderência da

armadilha de PTFE na parede do frasco, diminuindo sensivelmente a capacidade de retenção do NH<sub>3</sub> (SØRENSEN; JENSEN, 1991).

Tabela 6 - Valores médios de N difundido e a % de difusão para o interior das fitas de PTFE fitas nos diferentes tempos de agitação

Tempo de agitação (h)	N difundido (μg)	% difusão <sup>1</sup>
24	52,3 a*	63,9
48	66,9 b	81,7
72	64,2 b	78,4
96	63,3 b	77,2

<sup>1</sup>: calculada como (N recuperado x 100)/N total adicionado.
\*: médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).</li>

Temperatura (℃)	Profundidade (cm)	Função ajustada	R <sup>2</sup>
		LVe	
	0-10	$TMB = 0,0625 + 1,603.10^{-6}.X^{3} + (-1,11.10^{-35})^{X}$	0,99
15	10-20	$TMB = -0,1013+0,00013.X^{2,5}-1,5.10^{-5}.X^{3}$	0,99
	20-30	$TMB = -0,0356 + 0,00025.X^2 - 2,6708.10^{-6}.X^3$	0,99
	0-10	TMB = 1,9951-0,0001.X <sup>2</sup> -49,238/X	0,99
20	10-20	$TMB = -0,2085 + (-6,0727.10^{-36})^{X} + 0,0877.X^{0.5}$	0,99
	20-30	$TMB = 0,1750 + 4,7231.10^{-7}.X^3 + (-3,3718.10^{-36})^{X}$	
	0-10	$TMB = -0,0528 + 9,5712.10^{-6}.X^3 + (-6,6196.10^{-35})^{X}$	0,98
25	10-20	$TMB = 0,0530 + 5,0194.10^{-6}.X^{3} + (-3,4526.10^{-35})^{X}$	0,99
	20-30	TMB = -0,4179+0,0196.X-1,11255 <sup>X</sup>	0,99
	0-10	TMB = -1,4171-2,5.X <sup>3</sup> +0,3407.X <sup>0,5</sup>	0,99
30	10-20	$TMB = 0,0362 + 0,0004.X^{2} + (-5,1138.10^{-6})X^{3}$	0,99
	20-30	$TMB = 0,01 + 43,2/X - 1152/X^2$	
		LVd	
	0-10	$TMB = -0,6246 + (-8,8621.10^{-36})^{X} + 0,1583.X^{0,5}$	0,99
15	10-20	$TMB = -0,5267 + 0,00045.X^{1,5} + 3,6751/X^{0,5}$	0,99
	20-30	$-30 \qquad \text{TMB} = -0,1030 + 0,0036.X + 176,39/X^2$	
	0-10	$TMB = 0,6646 + (-5,6640.10^{-5}) \cdot X^2 - 51,5509 / X^{1.5}$	
20	10-20	$TMB = 0,5711 - 0,0004.X^{1.5} - 281,635/X^2$	
	20-30	$TMB = 0,6313\text{-}0,0004.X^{1.5}\text{-}70,1515/X^{1.5}$	0,99
	0-10	$TMB = -0,03388 + 7,5298.10^{-6}.X^3 + (-4,7673.10^{-35})^{X}$	0,99
25	10-20	$TMB = 0,1721 + 2,8271.10^{-5}.X^{2.5} - 2,7802^{X}$	0,99
	20-30	$TMB = 0,2513 + 1,9089.10^{-6}.X^{3} + (-1,5859.10^{-35})^{X}$	0,87
	0-10	$TMB = 0,6995\text{-}7,1511.10^{\text{-}7}.X^3\text{-}342,23/X^2$	0,99
30	10-20	TMB = 1,6996-0,1507.X <sup>0,5</sup> -651,29/X <sup>2</sup>	0,99
	20-30	$TMB = 0,0903 + 1,0751/X^{0.5} + (-1,46.10^{12})^{-X}$	0,99

Anexo B - Ajuste matemá	tico das isotermas	da taxa de m	nineralização bruta
-------------------------	--------------------	--------------	---------------------

Tabela 7 - Funções ajustadas e o respectivo valor do coeficiente de determinação (R <sup>2</sup> ) de isotermas
da taxa de mineralização bruta de N (TMB) nas camadas de 0-10, 10-20 e 20-30 cm do
solo, em quatro temperaturas de incubação (15, 20, 25 e 30 ℃)

X: % da capacidade máxima de retenção de água no solo (CMRA).