**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Intensificação de cultivos na região Sul do Brasil: estoques de C e N e
efeitos na fertilidade do solo a longo prazo**

Murilo Nunes Valenciano

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre
em Ciências. Área de concentração: Solos e Nutrição de
Plantas

**Piracicaba
2021**

Murilo Nunes Valenciano
Engenheiro Agrônomo

**Intensificação de cultivos na região Sul do Brasil: estoques de C e N e efeitos na
fertilidade do solo a longo prazo**

Versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **RAFAEL OTTO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre
em Ciências. Área de concentração: Solos e Nutrição de
Plantas

Piracicaba
2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Valenciano, Murilo Nunes

Intensificação de cultivos na região Sul do Brasil: estoques de C e N e efeitos na fertilidade do solo a longo prazo / Murilo Nunes Valenciano. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2021.

72 p.

Dissertação (Mestrado)- - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Milho 2. Adubação nitrogenada 3. Estoque de carbono 4. Nitrogênio orgânico dissolvido I. Título

Aos meus avós, Francisco (in memoriam) e Durvalina (in memoriam), pelo mais belo exemplo de amor.

Aos meus pais, Nilson e Gevandede, por jamais me desampararem ao longo da jornada.

A todos os produtores rurais brasileiros, por serem meu maior motivo de empenho dentro da profissão.

Ao Professor Alfredo Scheid Lopes (in memoriam) pelo exemplo de ser humano e entusiasta da vida.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por sempre me agraciar com saúde, oportunidades e conquistas pessoais e profissionais.

Aos meus familiares, em especial aos meus pais, Nilson e Gevandede, por todo carinho, amor e ensinamentos e por sempre me apoiarem nos caminhos que trilhei.

À minha irmã Rosemeire, por todo o apoio ao longo de minha vida e pelo amor incondicional.

À Jessika, pelo amor, companheirismo, cumplicidade, amizade e em tão pouco tempo se tornar tão importante para a concretização deste nosso sonho. Gratidão por ser uma das minhas maiores motivações e caminhar ao meu lado por um propósito tão grandioso e belo.

À Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ – USP), por todo apoio e oportunidades oferecidas de aqui poder desenvolver ações voltadas ao bem comum nacional e especialmente aos agricultores desse Brasil, que muito se orgulham por terem ao seu lado uma das melhores instituições do mundo no segmento agrário, sempre firmando compromisso sério com toda a sociedade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas e ao Departamento de Ciência do Solo da ESALQ – USP, por todo o suporte estrutural, material e principalmente pessoal concedido, certamente fizeram total diferença, e fazem jus aos ótimos índices de qualificação nacional e internacional que são obtidos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado (PROEX - 88887.340843/2019-00) entre março de 2019 e maio de 2020.

Ao Centro Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa durante o período de junho de 2020 e janeiro de 2021.

Ao Professor Dr. Rafael Otto, pela amizade, dedicação, ensinamentos, atuando como importante exemplo de ser humano e por sempre acreditar na minha evolução, pessoal e profissional.

A todos os integrantes do GAPE, em especial ao Professor Dr. Godofredo Vitti, pela pujança e amor ao que faz com grande maestria, sua vida é um exemplo a todos que não apenas passam pelo grupo, mas o vivem.

Aos meus amigos de pós-graduação, Lílian, Raíssa, Matheus e Lucas, pelo apoio incondicional em todos os momentos desde a minha chegada, que certamente, fizeram a diferença e levarei por toda a vida.

Ao International Plant Nutrition Institute (IPNI), pelo financiamento do projeto Global Maize Project durante toda a sua condução.

À Fundação ABC, pela disponibilidade de seus colaboradores, que ajudaram incansavelmente durante os dias de coleta. Agradeço em especial ao Abraão e ao Adão.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), por todas as oportunidades ao longo da minha formação como Agrônomo, em especial a todas as pessoas que trabalhei no Departamento de Ciência do Solo, por sempre motivarem a busca pela excelência profissional e pessoal.

Aos amigos que fiz durante a jornada da vida, Mateus França, Gabriel Teles, Cleverson Gomes, Éderson Bonin, José Miguel, Diogo Ribeiro, Jhonatan Ribeiro, Lucas Oliveira e José Inocêncio, por mesmo na distância demonstraram que distância não é nada para uma amizade verdadeira. Obrigado pela irmandade, companheirismo e apoio.

E acrescentou: “Seja forte e corajoso! Mãos ao trabalho! Não tenha medo nem desanime, pois Deus, o Senhor, o meu Deus, está com você. Ele não o deixará nem o abandonará até que se termine toda a construção do templo do Senhor. ”

1 Crônicas 28: 20

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE ABREVIACÕES	12
1. INTRODUÇÃO	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO	15
3. OBJETIVO.....	19
3.1. Objetivo geral	19
3.2. Objetivos específicos	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1. Local do experimento	21
4.2. Delineamento experimental	23
4.3. Avaliações.....	24
4.4. Análises laboratoriais.....	25
4.4.1. Preparo das amostras	25
4.4.2. Determinação do teor de C e N total no solo.....	25
4.4.3. N-inorgânico e N-orgânico dissolvido (NOD)	26
4.4.4. Fertilidade do solo	28
4.5. Análise estatística	29
5. RESULTADOS	31
5.1. Produtividade do milho e resposta à adubação	31
5.2. Estoques de C e N total.....	32
5.3. N inorgânico e N orgânico dissolvido	36
5.4. Fertilidade do solo	38
6. DISCUSSÃO.....	47
7. CONCLUSÕES.....	55
REFERÊNCIAS	57
APÊNDICES	67

RESUMO

Intensificação de cultivos na região Sul do Brasil: estoques de C e N e efeitos na fertilidade do solo a longo prazo

A adubação nitrogenada tem potencial de aumentar o rendimento dos cultivos, porém o uso de doses de nitrogênio (N) acima daquela requerida pode resultar em perdas de N no sistema solo-planta. A adoção de sistemas integrados de produção, com rotação entre gramíneas e leguminosas, tem potencial de aumentar o rendimento agrícola e reduzir a demanda de fertilizantes nitrogenados. Neste estudo avaliamos o efeito da cultura de cobertura antecessora ao milho e adubação nitrogenada na distribuição de frações de C e N no perfil do solo, ciclagem de nutrientes e produtividade do milho em sistema de plantio direto. A nossa hipótese é que a rotação de culturas aumenta os estoques de C e N no solo e a fertilidade do solo, permitindo manter elevadas produtividades do milho com menores doses de N-fertilizante. Um experimento de campo foi conduzido durante oito anos sob o delineamento de blocos casualizados em um arranjo de parcelas subdivididas. As parcelas foram compostas de três rotações bianuais: Padrão Agrícola Atual (PAA), aveia preta e milho no primeiro ano, trigo e soja no segundo ano; Padrão Agrícola Forrageiro (PAF), aveia branca (para silagem) e milho no primeiro ano, azevém (para silagem) e soja no segundo ano; e Intensificação Ecológica (IE), ervilha forrageira e milho no primeiro ano, trigo e soja no segundo ano. As subparcelas foram compostas de doses de N (sem N, 70, 140, 210 kg ha⁻¹N) aplicadas em cobertura (estádio V4) durante o cultivo do milho. Foram obtidos resultados de produtividade de todos os anos do experimento. Em junho de 2019, ao final de oito anos do experimento, foram coletadas amostras de solo até 1,0 m de profundidade para determinação do N total, C total, N inorgânico (NH₄⁺, NO₃⁻ e NO₂⁻), N orgânico dissolvido (NOD) e densidade do solo. Também foi realizada análise química do solo nas camadas 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm. A adubação nitrogenada promoveu ganhos de produtividade no milho nos três sistemas de rotação, porém a resposta à adubação seguiu a ordem PAA > PAF > IE. A rotação de culturas alterou de forma significativa os estoques de C e N do solo, com maiores estoques para o sistema IE. O aumento nas doses de N, por outro lado, não contribuiu para o aumento nos estoques de C e N total do solo. O aumento nas doses de N também não aumentou os estoques de N inorgânico no solo, demonstrando baixa capacidade de lixiviação de nitrato nas condições do estudo. Apesar dos teores de NOD não sofrerem influência dos sistemas de rotação e doses de N, foram mais elevados em todo o perfil de solo comparado aos teores de N inorgânico. Estudos futuros devem elucidar os mecanismos de retenção e transporte de NOD em solos tropicais. O aumento nas doses de N promoveu, nos três sistemas, maior acidificação do solo, enquanto o sistema PAF promoveu redução nos teores de nutrientes no solo em virtude da maior extração de nutrientes pela colheita da parte aérea. Os resultados indicam que a rotação de culturas tem maior potencial de promover aumento nos estoques de C e N no solo do que a intensificação no uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos.

Palavras-chave: Milho, Adubação nitrogenada, Estoque de carbono, Nitrogênio orgânico dissolvido

ABSTRACT

Agricultural intensification in south Brazil: long term effects on soil C and N storage and soil fertility

Nitrogen fertilization has the potential to increase crop yields, but the use of nitrogen (N) doses above that required can result in N losses in the soil-plant system. The adoption of integrated production systems, with rotation between grasses and legumes, has the potential to increase agricultural yield and reduce the demand for nitrogen fertilizers. In this study, we evaluated the effect of the cover crop preceding corn and nitrogen fertilization on the distribution of C and N fractions in the soil profile, nutrient cycling and corn yield under no-tillage system. Our hypothesis is that crop rotation increases soil C and N stocks and soil fertility, allowing the maintenance of high maize yields with lower doses of fertilizer-N. A field experiment was conducted for eight years under a randomized block design in a split-plot arrangement. The plots were composed of three biannual rotations: Current Agricultural Standard (PAA), black oats and corn in the first year, wheat and soybeans in the second year; Forage Agricultural Standard (PAF), white oats (for silage) and corn in the first year, ryegrass (for silage) and soybeans in the second year; and Ecological Intensification (IE), forage peas and corn in the first year, wheat and soybeans in the second year. The subplots were composed of N doses (no N, 70, 140, 210 kg ha⁻¹N) applied in topdressing (stage V4) during corn cultivation. Productivity results were obtained from all years of the experiment. In June 2019, at the end of eight years of the experiment, soil samples were collected up to 1.0 m in depth to determine total N, total C, inorganic N (NH₄⁺, NO₃⁻ and NO₂⁻), dissolved organic N (NOD) and soil density. Chemical analysis of the soil was also carried out in layers 0-5, 5-10, 10-20 and 20-40 cm. Nitrogen fertilization promoted yield gains in corn in the three rotation systems, but the response to fertilization followed the order PAA > PAF > IE. Crop rotation significantly altered soil C and N stocks, with higher stocks for the IE system. The increase in N doses, on the other hand, did not contribute to the increase in soil C and total N stocks. The increase in N doses also did not increase the soil inorganic N stocks, demonstrating low nitrate leaching capacity under the study conditions. Although NOD contents were not influenced by rotation systems and N doses, they were higher throughout the soil profile compared to inorganic N contents. Future studies should elucidate NOD retention and transport mechanisms in tropical soils. The increase in N doses promoted, in the three systems, greater soil acidification, while the PAF system promoted a reduction in soil nutrient contents due to the greater extraction of nutrients by the aerial part harvest. The results indicate that crop rotation has greater potential to promote an increase in soil C and N stocks than the intensification in the use of synthetic nitrogen fertilizers.

Keywords: Corn, Nitrogen fertilization, Carbon stock, Dissolved organic nitrogen

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Produtividade média de milho (kg ha^{-1} , ajustado a 13% de umidade) de quatro safras, submetido a doses de N em cobertura (sem N, 70, 140 e 210 kg ha^{-1}) e em diferentes sistemas de rotação. PAA – Padrão agrícola atual, PAF – Padrão agrícola forrageiro, IE – Intensificação ecológica. Todas as equações foram significativas ($P < 0,05$). 31
- Figura 2.** Estoques de C total no perfil de solo após oito anos sob diferentes sistemas de rotação (Padrão agrícola atual - PAA, Padrão agrícola forrageiro - PAF e Intensificação ecológica - IE) e doses de N milho (sem N, 70, 140 e $210 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$), na região sul do Brasil. O intervalo das barras de erro representa dois erros padrão da média ($n = 16$ para as médias das culturas de cobertura, $n = 8$ para as médias das taxas N e $n = 4$ para as médias das doses dentro das coberturas). Letras minúsculas diferentes, dentro de uma mesma camada de solo, indicam haver diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,1$). 33
- Figura 3.** Estoques de N total no perfil de solo após oito anos sob diferentes sistemas de rotação (Padrão agrícola atual, Padrão agrícola forrageiro e Intensificação ecológica) e doses de N no milho (sem N, 70, 140 e $210 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$), na região sul do Brasil. O intervalo das barras de erro representa dois erros padrão da média ($n = 16$ para as médias das culturas de cobertura, $n = 8$ para as médias das taxas N e $n = 4$ para as médias das doses dentro das coberturas). Letras minúsculas diferentes, dentro de uma mesma camada de solo, indicam haver diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,1$). 35
- Figura 4.** Valores de pH, Al e $\text{H} + \text{Al}$ nas camadas 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40cm, após oito anos sob diferentes sistemas de rotação (PAA – Padrão agrícola atual, PAF – Padrão agrícola forrageiro, IE – Intensificação ecológica) e doses de N no milho (sem N, 70, 140 e $210 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$). 39
- Figura 5.** Valores de Capacidade de troca catiônica (CTC) efetiva, Capacidade de troca catiônica (CTC) potencial e Saturação de bases nas camadas 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, após oito anos sob diferentes sistemas de rotação (PAA – Padrão agrícola atual, PAF – Padrão agrícola forrageiro, IE – Intensificação ecológica) e doses de N no milho (sem N, 70, 140 e $210 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$). 41
- Figura 6.** Valores de Ca, Mg e K nas camadas 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, após oito anos sob diferentes sistemas de rotação (PAA – Padrão agrícola atual, PAF – Padrão agrícola forrageiro, IE – Intensificação ecológica) e doses de N no milho (sem N, 70, 140 e $210 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$). .. 43
- Figura 7.** Valores de Zn, Cu e Mn nas camadas 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, após oito anos sob diferentes sistemas de rotação (PAA – Padrão agrícola atual, PAF – Padrão agrícola forrageiro, IE – Intensificação ecológica) e doses de N no milho (sem N, 70, 140 e $210 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$). 45
- Figura 8.** Teores de P-resina nas camadas 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, após oito anos sob diferentes sistemas de rotação (PAA – Padrão agrícola atual, PAF – Padrão agrícola forrageiro, IE – Intensificação ecológica) e doses de N no milho (sem N, 70, 140 e $210 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$). . 46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Histórico de rotação de culturas realizadas durante o período experimental.	23
Tabela 2. Incremento de produtividade no milho e resposta à adubação em função das doses de N, em quatro safras (12/13, 14/15, 16/17 e 18/19), sob diferentes sistemas de rotação de culturas ¹	32
Tabela 3. N inorgânico ($\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$) e N orgânico dissolvido (NOD) no perfil de solo após oito anos sob diferentes sistemas de rotações de culturas (Padrão agrícola atual, PAA; Padrão agrícola com forragem, PAF e Intensificação ecológica, IE) e doses de N no milho (sem N, 70, 140 e 210 kg ha ⁻¹ ano ⁻¹), na região sul do Brasil ¹	37

LISTA DE ABREVIACÕES

C - Carbono

Ca - Cálcio

COS - Carbono Orgânico Solúvel

CT - Carbono Total

CTC - Capacidade de Troca Catiônica

EUN – Eficiência do uso de nitrogênio

IE - Intensificação ecológica

K - Potássio

Mg - Magnésio

N - Nitrogênio

NH_4^+ - Amônio

NO_3^- - Nitrato

NOD - Nitrogênio Orgânico Dissolvido

NT - Nitrogênio Total

P - Fósforo

PAA - Padrão agrícola atual

PAF - Padrão agrícola forrageiro

MOS - Matéria orgânica do solo

SB - Soma de Bases

SPD - Sistema Plantio Direto

V% - Saturação de Bases

1. INTRODUÇÃO

Os agrossistemas brasileiros apresentam grande potencial de produtividade e de melhoria das funções do solo quando submetidos a um sistema intensivo de produção de biomassa e manejo conservacionista (Mc Daniel et al., 2014; Salton et al., 2014; Moraes Sá et al., 2015). Nesse sentido, a diversificação de culturas tem papel fundamental na obtenção do sucesso que se espera com a intensificação de sistemas. A rotação de culturas apresenta uma série de benefícios, podendo auxiliar na estruturação do solo e proteção contra a erosão, incrementa os teores de matéria orgânica do solo (MOS), aumentando a atividade microbiana e elevando a capacidade do solo em fornecer nutrientes para as plantas, sendo seus benefícios diretamente proporcionais ao aumento da diversificação de cultivos (Sisti et al., 2004; Mc Daniel et al., 2014).

Na região Sul do Brasil, que apresenta condições de clima subtropical, tem-se dado maior ênfase na inclusão de leguminosas em rotação como estratégia de aumentar os estoques e a disponibilidade de nitrogênio (N) para as culturas subsequentes. Com isso, busca-se reduzir a necessidade de aplicação de altas doses de fertilizantes nitrogenados e diminuir os efeitos desfavoráveis associados à adubação nitrogenada, como acidificação do solo e perdas de N-fertilizante por lixiviação, volatilização ou desnitrificação (Aita et al., 2001; Amado et al., 2002; Gava et al., 2006). No entanto, existem pontos que apresentam como desvantagens na adoção de determinadas plantas leguminosas como o custo de aquisição de sementes e risco de serem hospedeiras de potenciais patógenos, que podem gerar risco para as culturas de verão e maior valor agregado.

Outro ponto importante que justifica a busca por redução na aplicação de fertilizantes nitrogenados sintéticos é o baixo aproveitamento do N-fertilizante, também conhecido como eficiência de uso do N (EUN). A EUN em sistemas agrícolas normalmente varia de 30 a 50% do N (Ladha et al., 2016) e o aumento da dose de N-fertilizante, além de poder resultar em maiores perdas, pode também gerar perdas na MOS pela aceleração da mineralização de resíduos (Green et al., 1995; Dourado-Neto et al., 2010; Ladha et al., 2011). Assim, alinhar o benefício da diversificação de plantas com o benefício de uma correta adubação nitrogenada se faz essencial para garantir sistemas produtivos e sustentáveis por mais tempo.

Embora seja de amplo conhecimento os benefícios da cultura anterior para a produtividade da cultura subsequente (Aita et al., 2001; Crusciol et al., 2015), informações a respeito da intensificação e diversificação de cultivos a longo prazo na dinâmica do carbono (C) e N no solo, ciclagem de nutrientes, assim como a relação com a produtividade, ainda são escassas ou fragmentadas. Para isso, experimentos de longa duração que avaliem o efeito

acumulado destas práticas na qualidade e funcionalidade do solo são fundamentais por permitirem estabelecer práticas agrícolas sustentáveis. Portanto, a hipótese deste estudo é que a intensificação de cultivos aumenta os estoques de C e N e a fertilidade do solo em sistema de produção de cereais na região Sul do Brasil, permitindo reduzir as doses de N sem causar prejuízos à produtividade da cultura principal.

Assim, o presente estudo avalia o efeito da fertilização nitrogenada durante oito anos nos estoques de C e N no perfil do solo e na ciclagem de nutrientes em função de três sistemas de rotação de culturas, em que gramíneas e leguminosas são cultivadas no inverno antes do cultivo do milho verão (milho safra) para melhorar os estoques de C e de nutrientes no solo, assim como reduzir a dependência do uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos para produção de grãos na região sul do Brasil.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

No decorrer das últimas décadas, a agricultura brasileira vem passando por mudanças significativas em inúmeras fases do processo produtivo. Dentre as diversas mudanças, se destaca o sistema plantio direto (SPD) (Kassam et al., 2015), proporcionando diversos benefícios em termos de produtividade, segurança contra efeitos climáticos adversos e, principalmente a conservação do solo (Baumhardt et al., 2015; Kassam et al., 2015). A rotação de culturas, um dos preceitos básicos do SPD, protege o solo contra erosão, incrementa os teores de MOS (Kinoshita et al., 2017; Nunes et al., 2018), favorece a atividade microbiana e a capacidade do solo em fornecer nutrientes para as plantas (Sisti et al., 2004; Luo et al., 2010; McDaniel et al., 2014).

Dentro do sistema produtivo brasileiro, a cultura do milho (*Zea mays* L.) tem grande relevância, tanto pelos altos níveis de produtividade que possibilitam alto retorno econômico, quanto em aspectos de sustentabilidade (Contini et al., 2019). Com 17 milhões de hectares (ha) cultivados e produção de 102 milhões de toneladas na safra 2019/2020 (Conab 2020), o Brasil se consolida como terceiro produtor mundial de milho (USDA 2020). Esse sucesso do cultivo do milho se deve a esforços em inúmeras áreas como por exemplo, o desenvolvimento de híbridos com maior potencial de rendimento, que assegura a produção em segunda safra, assim como maior utilização de fertilizantes no sistema produtivo, principalmente fertilizantes nitrogenados (Duarte e Kappes, 2015).

Mesmo com a existência de inúmeras opções de manejo mais sustentável e rentável, muitos produtores ainda adotam sistemas agrícolas com foco em redução da variabilidade de espécies na área de cultivo, uso de fertilizantes em doses acima da recomendação ou sem considerar as taxas de ciclagem de nutrientes potencialmente promovidas pelo agroecossistema. Como resultado, em inúmeros casos promovem-se perdas econômicas e danos ambientais de lenta e difícil reversão (Lal, 2015).

Manejar o N em sistemas agrícolas é um grande desafio, pois o comportamento deste nutriente está associado a diversos processos e transformações, que incluem processos de perdas por meio da volatilização, desnitrificação, lixiviação, além da alta quantidade de N normalmente removida pelas culturas (Moreira e Siqueira, 2006; Collier et al., 2016). Por exemplo, o uso excessivo de fertilizante nitrogenado e a incapacidade de estimar com precisão a mineralização de N a partir de resíduos culturais e da MOS pode levar ao uso excessivo que varia de 40 – 60 % da dose ótima, podendo resultar em perdas de N para o ambiente após a colheita (Rosolem et al., 2017; Thapa et al, 2018). Mesmo quando o fertilizante nitrogenado não é fornecido em excesso, a ausência de sincronia entre o fornecimento de N a demanda pela

planta pode resultar em excesso de N em determinados períodos do ciclo de cultivo, tornando-o suscetível à lixiviação e desnitrificação.

Híbridos modernos de milho requerem teores altos de N, em torno de 24 a 28 g kg⁻¹ de matéria seca da parte aérea, sendo que, em cultivos modernos, com rendimentos superiores a 10 t ha⁻¹, as adubações nitrogenadas podem atingir níveis a partir de 250 a 340 kg ha⁻¹ com metade desses valores sendo exportados nos grãos (Gava et al., 2006; Resende et al., 2016). Apesar das altas doses de fertilizante nitrogenado aplicadas no milho, a EUN foi de 40% na média de 93 estudos conduzidos em diversas regiões do mundo utilizando a técnica do traçador isotópico (¹⁵N) (Ladha et al., 2011).

Dourado-Neto et al. (2010) conduziram experimentos de recuperação de ¹⁵N em 13 agroecossistemas tropicais e obtiveram EUN média de 21 % no primeiro ano de cultivo das culturas de milho, cana-de-açúcar, trigo e arroz; na soma de seis safras, a EUN totalizou 54%. Nesse mesmo estudo, em média, 79 % do N acumulado pelas culturas foi derivado do solo, o que ressalta a importância da MOS e rotação de culturas para manutenção da capacidade do solo em suprir N às plantas.

O papel da adubação nitrogenada no acúmulo de C no solo a longo prazo ainda é controverso, principalmente com doses elevadas de N (Blevins et al., 1983; Havlin et al., 1990; Campbell et al., 2007). Embora alguns estudos demonstrem que o aumento da biomassa promovido pela fertilização nitrogenada aumenta os estoques de C do solo (Ladha et al., 2011; Deng et al., 2018), outros estudos demonstram que o excedente de N, normalmente sob condições de doses de N muito superiores à demanda das plantas, aumenta a atividade microbiana e estimula a mineralização da MOS, esgotando o estoque de C e N do solo a longo prazo (Khan et al., 2007; Mulvaney et al., 2009). Existem, ainda, estudos que não observaram nem aumento nem declínio no estoque de C em função dos níveis de adubação nitrogenada (Kintché et al., 2014; Sattolo et al., 2017). Ou seja, não há uma relação clara entre a adubação nitrogenada e os estoques de C no solo, possivelmente em função da dinâmica complexa de N no solo, variações do tipo de agroecossistema, solo e clima do estudo em questão, e dos níveis de adubação nitrogenada e remoção de N pelas colheitas observados em cada situação. Por essa razão, além de avaliar estoques de C total do solo, pode ser interessante avaliar outras frações do C do solo que possam ser mais facilmente alteráveis em função do manejo.

Poffenbarger et al. (2017) avaliaram mudanças no C orgânico solúvel (COS) do solo proporcionadas pela aplicação a longo prazo de doses de N na cultura do milho e observaram que os saldos do COS eram negativos na ausência de adubação nitrogenada, enquanto no milho contínuo, a taxa de armazenamento do COS aumentou com o aumento da dose, atingindo um

máximo na dose de N ideal, mas diminuindo acima da dose de N ideal. Além disso, os autores relataram que quando a dose de N estava acima do ideal, houve aumento do N inorgânico residual, o que aumentou a mineralização do COS, levando à perda.

Green et al. (1995) também observaram que adições anuais de mais fertilizante do que o necessário poderia causar perdas de MOS e sugeriram que reduzir a fertilização desnecessária poderia ajudar a conservá-lo. O N inorgânico residual do solo produzido devido à aplicação do fertilizante nitrogenado além do nível ideal pode aumentar a mineralização do COS, eliminando a limitação de N no crescimento microbiano (Green et al., 1995; Mulvaney et al., 2009) ou afetando adversamente a agregação do solo (Fonte et al., 2009; Chivenge et al., 2011), tornando a MOS previamente protegida mais suscetível à deterioração. A fertilização excessiva com N também pode diminuir a relação C/N dos resíduos das culturas e aumentar sua taxa de decomposição, principalmente em plantas leguminosas que já apresentam baixa relação C/N.

O uso de culturas de cobertura em sistema de produção são uma alternativa importante para aumentar a sustentabilidade, pois pode favorecer o aumento da fertilidade do solo, através da ciclagem de nutrientes das culturas antecessoras e deposição na superfície do solo de nutrientes absorvidos de camadas mais profundas do solo e disponibilizados após degradação da palha (Alvarenga et al., 2001; Duda et al., 2003; Torres et al., 2005; Boer et al., 2007; Pacheco et al., 2011). A proteção do solo, a ciclagem de nutrientes e a fixação biológica de nitrogênio (FBN), tanto no inverno quanto no verão ou no período entressafras, permitem a construção de um sistema de produção que priorize os conceitos de sustentabilidade, minimizando os custos de produção.

Entre as plantas de cobertura, as leguminosas (*Fabaceae*) apresentam a vantagem de se associarem simbioticamente aos microrganismos fixadores de N, promovendo a FBN e o aumento no aporte de N ao solo (Perin et al., 2004). A capacidade das leguminosas em ciclar N no solo e fixar o N atmosférico, associado à alta demanda de N das gramíneas e o alto custo dos fertilizantes nitrogenados, contribuem para a inclusão dessas espécies na rotação com o milho (Giacomini et al., 2004). No Sul do Brasil, as leguminosas cultivadas no inverno têm alto potencial de produção de matéria seca, atingindo taxas de acúmulo de C de 1,42 t ha⁻¹ ano⁻¹ (Diekow et al., 2005). Veloso et al. (2018) destacaram que a fixação de N por plantas de coberturas leguminosas pode ser duas vezes mais eficiente no acúmulo de C do que a fertilização com N.

Outro grupo de plantas de cobertura, as gramíneas (*Poaceae*), são grandes produtoras de massa seca, com alta relação C/N e menor taxa de decomposição em relação às leguminosas, favorecendo a manutenção da palha na superfície do solo por um longo período, atuando como

regulador de temperatura e umidade do solo, além de reduzir o risco de erosão (Alvarenga et al., 2001; Pacheco et al., 2011). Por outro lado, pode favorecer a imobilização microbiana de N durante o processo de decomposição (Thomas e Asakawa, 1993). A lenta decomposição da palhada de gramíneas tem potencial de aumentar os teores de COS na camada superficial do solo em SPD (Chen et al., 2017). Devido à sua fenologia de crescimento, morte e regeneração do sistema radicular, as gramíneas geralmente aumentam a entrada de C no solo, resultando em taxa de acúmulo de até $0,5 \text{ t ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ em um metro de profundidade (Albuquerque et al., 2015).

Estudos mostram que a utilização de plantas de cobertura, visto a sua grande capacidade de ciclagem, podem proporcionar aumentos na concentração dos demais nutrientes além do N no solo. Dube et al. (2014) mostraram que a adição de aveia de inverno e resíduos de ervilhaca aumentou consideravelmente a concentração de fósforo (P) na camada superficial do solo e nas plantas de milho. A MOS aumenta a capacidade de troca catiônica do solo, consequentemente melhorando a capacidade do solo de armazenar outros macronutrientes, incluindo cálcio (Ca) e magnésio (Mg) (Newman et al., 2007; Harasim et al., 2016). Os micronutrientes formam complexos com a MOS, o que aumenta sua acessibilidade para absorção pelas plantas (Newman et al., 2007). As culturas de cobertura adicionam MOS, fornecendo assim C adicional, que serve como energia para sustentar as atividades dos microrganismos e enzimas do solo, contribuindo para ciclagem eficiente e melhoria da estrutura do solo (Snapp et al., 2005; Du et al., 2014).

A maioria das avaliações de entrada de N e seus impactos são baseadas apenas na contribuição de N de resíduos da parte aérea e na camada arável de 0 - 30 cm, enquanto as entradas de N de raízes em sua maioria são negligenciadas (Jani et al., 2016). Além disso, a maioria dos dados existentes foram obtidos em ambientes de clima temperado, fora do Brasil. Necessita-se, portanto, avaliar modelos de intensificação produtiva que ao mesmo tempo permitam elevadas produtividades, manutenção ou incremento dos estoques de C e N do solo, redução na dependência do uso de fertilizantes sintéticos e elevadas taxas de ciclagem de nutrientes (Corbeels et al., 2006).

Indo neste sentido, uma iniciativa internacional de pesquisa (“4 per 100”: soils for Food security and the climate) lançada durante a COP21 (21ª Conferência Anual das Partes da Convenção – Quadro das Nações Unidas sobre a Mudança Climática (CQNUMC) em Paris, 2015), tem como objetivo, aumentar os estoques de C em terras agrícolas em todo o mundo. A

ambição é aumentar os estoques reais de COS para uma profundidade de 1 m com 0,4 % por meio da implementação de melhores técnicas de gestão, o que poderia reduzir as emissões globais de gases de efeito estufa em 20 a 35% (Minasny et al., 2017). Aumentar os estoques de C é uma alternativa econômica para neutralizar mudanças climáticas (Freibauer et al., 2004), e pode ser uma estratégia não apenas reduzindo a taxa de crescimento de CO₂ mas também melhorando a fertilidade do solo e a sustentabilidade do solo mundial para garantir produção suficiente de alimentos (Henryson et al., 2018).

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo geral

Avaliar o estoque de C e N e a fertilidade do solo em função da rotação de cultura e doses de N em cobertura no milho em sistema de produção de grãos na região sul do Brasil.

3.2. Objetivos específicos

Avaliar o estoque de C e N no perfil de solo (1,0 m) em experimento de longa duração (8 anos) em três sistemas de rotação de culturas com doses de N.

Avaliar frações lábeis de C e N do solo em função dos sistemas de rotação de culturas e doses de N.

Avaliar a fertilidade do solo após oito anos de adoção de diferentes rotações de culturas e doses de N.

Avaliar a resposta do milho às doses de N em diferentes sistemas de rotação de culturas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Local do experimento

O experimento foi conduzido entre 2011 e 2019 na estação experimental da Fundação ABC, em Ponta Grossa - PR, Brasil (25°00'46" S; 50°09'06" W, 885 m altitude). O clima no local é Cfb de acordo com a classificação de Köppen-Geiger; um clima subtropical sem estação seca e com verões quentes (Aparecido et al., 2016). Apresenta temperaturas máximas e mínimas de 22 e 13 °C, respectivamente, e precipitações anuais de 1.400 a 1.550 mm. O solo da área experimental é caracterizado como Latossolo Vermelho eutrófico, com teor de argila oscilando entre 45 % e 59 % ao longo de 1,0 m de perfil (Albuquerque et al., 2015).

A área experimental estava sendo cultivada em sistema plantio direto desde 2007. Nos anos anteriores a instalação das parcelas experimentais, a área total do experimento havia sido cultivada com aveia-preta (*Avena strigosa* Schreb.), milho (*Zea mays* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.) e soja (*Glycine max* (L.) Merr.), na seguinte sucessão de inverno e verão:

2007-2008: aveia-preta e soja

2008-2009: aveia-preta e milho

2009-2010: trigo e soja

2010-2011: aveia-preta e soja.

Em 2011-2012, parcelas experimentais de longo prazo foram estabelecidas no campo para avaliar o papel da rotação de culturas na produtividade do milho e resposta do milho à fertilização nitrogenada, em um projeto intitulado Global Maize Project, coordenado pelo International Plant Nutrition Institute (IPNI).

Para a realização do estudo, três sistemas de rotação de culturas foram avaliados, identificados por Padrão Agrícola Atual (PAA), Padrão Agrícola Forrageiro (PAF) e Intensificação Ecológica (IE). A sucessão de culturas de inverno e verão adotada nos três sistemas de rotação de culturas foram:

Padrão agrícola atual (PAA): rotação bianual de aveia preta (cultura de cobertura) e milho (rendimento de grãos), seguido de trigo (rendimento de grãos) e soja (rendimento de grãos)

Padrão agrícola forrageiro (PAF): rotação bianual de aveia branca (rendimento de grãos) e milho verão (rendimento de grãos), seguido de azevém (colhido para silagem) e soja (rendimento de grãos)

Intensificação ecológica (IE): sucessão bianual de ervilha (cultura de cobertura) e milho (rendimento de grãos), seguido de trigo (rendimento de grãos) e soja (rendimento de grãos).

A Tabela 1 apresenta a sequência de cultivos em cada modalidade de rotação de culturas. Situações distintas podem ser observadas: em PAA, devido ao uso de três gramíneas, há um maior aporte de resíduos com relação C/N mais elevada, como 35:1 (Aita et al., 2001) na colheita anterior ao milho e da soja que fixa N, mas exporta uma parcela representativa através dos grãos, visto que a única planta que atua unicamente como cobertura é a aveia preta (Alves et. al., 2006). Em PAF, também há a entrada de três gramíneas, mas, apesar de possuírem alta relação C/N, é realizado o cultivo de azevém, que tem grande potencial de fixar N, que é uma prática adotada com frequência na região do estudo. Enquanto em IE, há a introdução de mais uma cultura leguminosa, sendo essa apenas para cobertura e antecedendo o cultivo do milho, apresentando baixa relação C/N e alto poder de fixação de N, podendo atingir valores de 30 a 180 kg ha⁻¹ de N (Aita et al., 2001; Alvarenga et al., 2001) que se tornam importantes para o milho na sequência.

Na safra 2015-2016, houve a aplicação de 2,5 t ha⁻¹ de calcário sobre superfície na área dos experimentos, além de uma mudança nas cultivares de azevém e aveia branca, sendo utilizadas cultivares mais precoces, que permitiam a realização de maior número de cortes no período.

Tabela 1. Histórico de rotação de culturas realizadas durante o período experimental.

Safr	Padrão agrícola		PAA com uso de forragem		Intensificação	
	atual (PAA)		no inverno (PAF)		Ecológica (IE)	
	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão
2011/2012	Trigo	Soja	Azevém	Soja	Aveia preta	Soja
2012/2013	Aveia preta	Milho	Aveia Branca	Milho	Ervilha	Milho
2013/2014	Trigo	Soja	Azevém	Soja	Trigo	Soja
2014/2015	Aveia preta	Milho	Aveia Branca	Milho	Ervilha	Milho
2015/2016	Trigo	Soja	Azevém	Soja	Trigo	Soja
2016/2017	Aveia preta	Milho	Aveia Branca	Milho	Ervilha	Milho
2017/2018	Trigo	Soja	Azevém	Soja	Trigo	Soja
2018/2019	Aveia preta	Milho	Aveia branca	Milho	Ervilha	Milho

4.2. Delineamento experimental

As parcelas foram estabelecidas após a colheita da soja em abril de 2011 em blocos ao acaso, de acordo com um esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições. Os sistemas de rotação foram alocados nas parcelas, que continham 9,5 m de largura e 36 m de comprimento. Nas subparcelas, que continham 9,5 m de largura e 9,0 m de comprimento, foram alocadas as doses de N (70, 140 e 210 kg ha⁻¹ de N), doses estas baseadas de acordo com o utilizado na região do experimento e também com Manual de adubação e calagem para o estado do Paraná (Paulleti e Motta, 2017), além de um controle sem aplicação de N em cobertura. As doses de N foram sempre realizadas utilizando ureia como fonte de N e aplicadas em cobertura no estágio fenológico V4 do milho, estando a quarta folha da planta totalmente aberta.

As culturas de inverno eram semeadas mecanicamente no espaço entrelinhas da cultura antecessora após a colheita de grãos, sendo que no tratamento PAF, o azevém e a aveia branca recebiam uma adubação de 300 kg ha⁻¹ de NPK (10-20-20) na semeadura, com uma adubação

de cobertura com 130 kg ha^{-1} de ureia e 100 kg ha^{-1} de KCl. Após o corte da parte aérea do azevém e da aveia branca, era realizada a aplicação de 120 kg ha^{-1} de ureia. O trigo de inverno era semeado com a aplicação de 300 kg ha^{-1} de NPK (10-20-20) aplicados no sulco de semeadura e 200 kg ha^{-1} de N (ureia) em cobertura. Em todas as semeaduras de milho foram aplicados 40 kg ha^{-1} de N (ureia) e 100 kg ha^{-1} de P_2O_5 em sulco de semeadura, 150 kg ha^{-1} de KCl em cobertura, parcelado em duas vezes durante o ciclo.

Os resultados de produção de grãos de todos os tratamentos, nos oito anos de cultivo, foram analisados e discutidos previamente por Otto et al. (2020). Por essa razão, neste estudo, o foco foi analisar os efeitos acumulados dos sistemas de rotação de culturas e doses de N no estoque de C e N do solo, assim como fertilidade do solo, ao final dos oito anos de cultivo. Somente foram incluídos resultados de produtividade do milho em determinados anos, para fins de complementar informações relevantes do estudo.

4.3. Avaliações

As amostras de solo foram coletadas em junho de 2019, ao final do oitavo ano do experimento, após todos os procedimentos de colheita da área já terem sido realizados. As avaliações de C e N no solo foram realizadas até 1 m de profundidade nos intervalos entre camadas de 0-10, 10-20, 20-40, 40-60, 60-80 e 80-100 cm. Para composição das amostras, 12 subamostras foram coletadas usando trado tipo sonda nas camadas até 60 cm de profundidade. Nas demais profundidades (camadas de 60-100 cm), quatro subamostras foram coletadas utilizando trado tipo holandês. O maior número de subamostras nas camadas superficiais (até 60 cm) foram decorrentes da maior variabilidade dos teores de C e N, assim como da fertilidade do solo, nas camadas superficiais do solo. Quanto à localização da amostragem, as subamostras foram coletadas em três posições, sendo uma na linha de semeadura da cultura de verão, uma próxima da linha (20 cm de distância do centro da linha) e uma na entrelinha da cultura de verão (40 cm do centro da entrelinha), com a finalidade de reduzir o impacto do local de aplicação dos fertilizantes e, dessa forma, representar melhor as condições de solo da parcela.

Após coleta, as amostras coletadas nas três posições foram homogeneizadas, a fim de obter uma amostra representativa. As amostras foram divididas em dois grupos: uma amostra para análise dos teores de C e N total e outra amostra para demais análises (umidade, N inorgânico e N orgânico dissolvido, NOD). O primeiro grupo de amostras foi mantido em temperatura ambiente, enquanto o segundo grupo de amostras foi acondicionado em isopor

contendo gelo, sendo posteriormente congelado e mantido congelado durante o transporte e armazenamento.

A densidade do solo para cada camada foi determinada utilizando o método do anel volumétrico (Grossman e Reinsch, 2002). Anéis volumétricos com volume interno aproximado de 98 cm³ foram coletados, com uso de um trado especial para coleta de amostras indeformadas, em um ponto da parcela principal (sistemas de rotação de culturas), seguindo o mesmo intervalo de camadas apresentado anteriormente. Um orifício foi aberto até a posição central de cada camada, com auxílio de trado de caneca (4 polegadas), sendo então coletada amostra com o trado especial para amostras indeformadas. O ponto escolhido para a coleta foi próximo a linha de cultivo (20 cm do centro da linha), evitando regiões onde passasse o rodado de máquinas.

4.4. Análises laboratoriais

4.4.1. Preparo das amostras

As amostras de solo que estavam congeladas foram descongeladas em temperatura ambiente previamente às análises de N inorgânico e NOD. Para expressar o teor de nutrientes em base seca, uma subamostra de 10g da amostra fresca foi pesada antes e após secagem em estufa durante 24 horas a 105 °C para determinação da umidade.

4.4.2. Determinação do teor de C e N total no solo

A determinação do teor de C e N total do solo foi realizada nas amostras que foram mantidas em temperatura ambiente. Após chegada ao laboratório, as amostras foram secas em estufa por 48h a 60 °C e posteriormente moídas em até passarem completamente por peneira de 0,150 mm. Os teores de C total e N total foram determinados por combustão a seco a partir do analisador Leco CNS-2000®. Este método tem por princípio a conversão de qualquer forma de N ou C presentes no solo em CO₂ e gás N₂, que são submetidos a um detector de infravermelho e um detector de condutividade termal para determinar o conteúdo de C e N, respectivamente, nas amostras.

O armazenamento de C e N total no solo foi calculado pela equação 1:

$$SS = Ec \times Sd \times Bd \times 100 \quad [Eq\ 1]$$

Onde: SS é o estoque de C ou N (Mg ha⁻¹); Ec é o teor de C e N total do solo (g kg⁻¹); Sd representa a profundidade do solo (m); Bd é a densidade do solo (kg m⁻³); 100 é o fator de conversão.

Os estoques de C e de N total foram corrigidos pela massa de solo equivalente, tendo a massa de solo do tratamento PAA como referência, seguindo a equação 2 apresentado por Sisti et al. (2004):

$$CN_s = \sum_{i=1}^{n-1} CN_{Ti} + \left[M_{Tn} - \left(\sum_{i=1}^n M_{Ti} - \sum_{i=1}^n M_{Si} \right) \right] \times CN_{Tn} \quad [\text{Eq2}]$$

Onde: CN é o estoque total (C ou N) corrigido em função da massa de solo da área de referência (t ha^{-1}); $\sum_{i=1}^{n-1} CN_{Ti}$ é o somatório dos estoques (C ou N) do solo da primeira à penúltima camada amostrada no tratamento considerado (t ha^{-1}); M_{Tn} é a massa de solo da última camada amostrada do tratamento; $\sum_{i=1}^n M_{Ti}$ é o somatório da massa total do solo amostrado no tratamento; $\sum_{i=1}^n M_{Si}$ é o somatório da massa total do solo amostrado na área de referência; CN_{Tn} é a concentração de C ou N da última camada amostrada do tratamento.

4.4.3. N-inorgânico e N-orgânico dissolvido (NOD)

Para extração das formas inorgânica de N (amônio, N-NH_4^+ , nitrato, N-NO_3^- e nitrito, N-NO_2^-) e o NOD, 4,0 g de amostras frescas foram agitadas por 1 hora com 40 mL de solução $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ K}_2\text{SO}_4$ em tubos de polipropileno (tubos Falcon) com capacidade de 50 mL mantidos horizontalmente em um agitador a 180 rpm. Após agitação, o sobrenadante foi filtrado através do filtro quantitativo de papel com fita azul Nalgon® no. 3552, previamente lixiviado com 5 mL de solução $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ K}_2\text{SO}_4$, a fim de remover eventual contaminação por N-NH_4^+ (Mulvaney, 1996; Jones e Willett, 2006). Visando evitar transformações químicas ou biológicas das formas de NOD em solução (Rousk e Jones, 2010), os extratos foram armazenados a -80°C até a leitura.

A determinação da concentração de N-NH_4^+ e $\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$ foi realizada pelo método colorimétrico sob leitura de absorbância em microplaca de 96 células (Cabrera e Beare, 1993; Mulvaney, 1996; Miranda et al., 2001). Para a determinação do N-NH_4^+ , pipetou-se 150 μL do extrato das amostras em cada uma das 96 células da microplaca, seguido da adição de 15 μL da solução complexante (obtida pela dissolução de 0,6g de ácido etileno dinitrilotetracético sal sódico ($\text{NaEDTA} - \text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) em 10 mL de água deionizada), com posterior homogeneização das soluções com agitação por 15 s. Em seguida, foi adicionado 60 μL da solução de salicilato-nitroprussiato (obtida pela dissolução de 1,562 g de salicilato de sódio ($\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3$) e 0,0025 g de nitroprussiato de sódio dihidratado

($C_5FeN_6Na_2O \cdot 2H_2O$) em 20 mL de água deionizada), repetindo o processo de agitação por 15 s para homogeneização. Por fim, foi adicionado 30 μ L da solução tampão (obtida pela dissolução de 0,296 g de hidróxido de sódio (NaOH) e 0,996 g de fosfato de potássio dibásico (K_2HPO_4) em uma mistura de 4 mL de água deionizada e 6 mL de hipoclorito de sódio), repetindo o processo de agitação por 15 s. Após 30 min de descanso para permitir o desenvolvimento da coloração verde-azul, realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro automatizado Tecan® modelo Sunrise TM, em comprimento de onda de 667 nm. O mesmo procedimento foi adotado para obter-se a curva padrão, produzida a partir do uso de nitrato de amônio (NH_4NO_3) nas concentrações de 0, 1,5, 3, 4,5 e 6 $mg\ L^{-1}$ de N.

A determinação de $N-NO_3^-$ e $N-NO_2^-$ também foi realizada em microplacas seguindo metodologia descrita em Miranda et al. (2001). Pipetou-se 100 μ L da solução extraída do solo, adicionando-se 100 μ L de solução redutora (obtida pela dissolução de 0,16g de cloreto de vanádio (VCl_3) em 20 mL de solução de 1,0 $mol\ L^{-1}$ de HCl), com agitação por 15s em agitador para a homogeneização. Em seguida, adicionou-se 50 μ L da solução de acoplamento (obtida pela dissolução de 0,02 g de dicloridrato alfa-naftil-etilenodiamina (NEDD – $C_{10}H_{14}N_2 \cdot 2HCl$) em 20 mL de água deionizada), repetindo-se a agitação por 15s para a homogeneização. Posteriormente, adicionou-se 50 μ L da solução de sulfanilamida (obtida pela dissolução de 0,4 g de sulfanilamida ($C_6H_8N_2O_2S$) em 20 mL de solução ácida de HCl 5 % (v/v)), realizando nova agitação por 15 s. Após repouso por 30 min para desenvolvimento da coloração rosa intensa, a leitura de absorbância foi realizada no comprimento de onda de 540 nm no espectrofotômetro automatizado Tecan® modelo Sunrise TM. O mesmo procedimento foi adotado para obter-se a curva padrão, produzida a partir do uso de nitrato de amônio (NH_4NO_3) nas concentrações de 0, 1,5, 3, 4,5, 6, 7,5, 9 e 10,5 $mg\ L^{-1}$ de N.

Para o cálculo dos teores de $N-NH_4^+$ e $N-NO_3^- + N-NO_2^-$, foi utilizada a seguinte equação:

$$Cc = [(a \times A) + b] \quad [Eq\ 3]$$

Onde, Cc = concentração de N inorgânico ($mg\ L^{-1}$) pelo método colorimétrico; a/b = coeficiente angular/linear da equação gerada a partir da curva padrão; A = absorbância (leitura do equipamento).

O teor de NOD foi obtido pela subtração do teor de N dissolvido total (NDT) dos teores de N inorgânico ($N-NH_4^+$, $N-NO_3^- + N-NO_2^-$). O teor de NDT foi obtido conforme Cabrera e Beare (1993), no qual todo N do extrato é convertido em $N-NO_3^-$. Resumidamente, 5 ml do

extrato foi misturado a 5 mL de solução $0,05 \text{ mol L}^{-1} \text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8 + 0,375 \text{ mol L}^{-1} \text{NaOH}$ + solução de H_3BO_3 a 3% (mantendo a proporção 1:1 v/v), em tubos de vidro de 20 mL, selados firmemente, com tampas de rosca contendo vedações internas de Teflon (Figura 1). Os frascos foram pesados e autoclavados a 120°C por 30 min. Após resfriamento, os frascos foram pesados novamente para verificar a necessidade de correção da concentração devido às perdas de água. Os frascos foram abertos, e uma alíquota de $100 \mu\text{L}$ foi utilizada para determinação do teor de $\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$ pelo método colorimétrico descrito anteriormente.

4.4.4. Fertilidade do solo

Na mesma ocasião de coleta, ou seja, após o oitavo ano de condução do experimento, foi realizada amostragem de solo até 40 cm para fins de avaliação da fertilidade do solo. Foram coletadas amostras estratificadas nas camadas de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, utilizando sonda para maior controle da profundidade. Foram coletadas 6 subamostras por parcela, sendo duas amostras coletadas na região da linha de cultivo de verão, duas amostras na região intermediária entre a linha de cultivo de verão e a entrelinha (a 20 cm da linha) e outras duas amostras na região da entrelinha (a 40 cm da linha).

A análise química do solo foi realizada seguindo os métodos descritos por Raij et al. (2001). Foram determinados, pH (CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$) com leitura em potenciômetro; P, Cálcio (Ca), Magnésio (Mg) e Potássio (K) extraídos por resina trocadora de íons, sendo que P foi determinado por espectrofotometria, Ca e Mg através de espectrofotometria de absorção atômica e K por espectrofotometria de chama; Alumínio trocável por titulometria após reação com KCl ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$); acidez potencial ($\text{H}+\text{Al}$) determinado por leitura de pH em solução SMP. Juntamente com os resultados obtidos, foi possível o cálculo de soma de bases (SB), saturação de bases (V%), capacidade de troca de cátions (CTC) e saturação por alumínio (m%). Os micronutrientes metálicos (Cu, Mn e Zn) foram extraídos por solução DTPA e quantificados por espectrofotometria de absorção atômica.

Além dos atributos químicos do solo, foram disponibilizados pela Fundação ABC, os dados de produção do milho de todas as parcelas durante os anos de condução do experimento, sendo nas parcelas avaliadas referente as safras 2012/2013, 2014/2015, 2016/2017 e 2018/2019. A colheita das parcelas foi realizada mecanicamente, nas linhas centrais da parcela experimental.

Para os dados de produtividade, foi calculada a porcentagem de resposta à adubação, sendo estabelecido pela seguinte equação: Resposta à adubação = [(Produtividade do

tratamento adubado – Produtividade do tratamento controle) / Produtividade do tratamento controle] x 100, em que o tratamento controle foi onde não houve adubação em cobertura no milho.

4.5. Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software Sisvar (Ferreira, 2014). Os atributos de fertilidade do solo e produtividade foram submetidos à análise de variância, ao nível de 5% de significância, utilizando-se teste de Tukey para comparação de médias entre os sistemas de rotação. Teores de C e N total, N-inorgânico e NOD foram submetidos à análise de variância, ao nível de 10% de significância, utilizando-se teste de Tukey para comparação de médias entre os sistemas de rotação.

Para avaliar o efeito e grau de associação entre as doses de N e os atributos do solo e produtividade do milho, foi realizada análise de regressão. Os gráficos e as equações de regressão foram gerados utilizando o software SigmaPlot v.14.0.

5. RESULTADOS

5.1. Produtividade do milho e resposta à adubação

Na IE, a produtividade do milho não respondeu a doses de N acima de 140 kg ha⁻¹ (Figura 1). Além disso, nas duas primeiras safras, mesmo no tratamento controle (sem N), a produtividade foi maior na IE comparado aos tratamentos que receberam N em PAA e PAF. Ao contrário da IE, as rotações PAA e PAF apresentaram resposta mais acentuada ao N na maioria das safras.

Figura 1. Produtividade média de milho (kg ha⁻¹, ajustado a 13% de umidade) de quatro safras, submetido a doses de N em cobertura (sem N, 70, 140 e 210 kg ha⁻¹) e em diferentes sistemas de rotação. PAA – Padrão agrícola atual, PAF – Padrão agrícola forrageiro, IE – Intensificação ecológica. Todas as equações foram significativas (P < 0,05).

Ao avaliar o incremento de produtividade do milho proporcionado pela adubação nitrogenada, em cada sistema de rotação, verifica-se incremento positivo de produtividade em favor da adubação nitrogenada em todos os sistemas de rotação, porém com maior magnitude nos sistemas PAA e PAF (Tabela 2). Além disso, se observa uma capacidade de resiliência do sistema PAF a partir da safra 16/17, com redução da resposta à adubação.

Tabela 2. Incremento de produtividade no milho e resposta à adubação em função das doses de N, em quatro safras (12/13, 14/15, 16/17 e 18/19), sob diferentes sistemas de rotação de culturas¹.

Rotação	Dose N	Safrá				Safrá			
		12/13	14/15	16/17	18/19	12/13	14/15	16/17	18/19
	kg ha ⁻¹	Incremento (kg ha ⁻¹)				Resposta à adubação (%)			
PAA	70	1285	1133	1185	2174	14	13	14	21
	140	2565	2928	1995	2467	28	32	23	23
	210	2681	3197	2577	2902	29	35	30	27
PAF	70	1517	1389	963	901	17	16	8	7
	140	2998	2917	787	1861	34	33	6	16
	210	3301	3405	889	1532	38	38	7	13
IE	70	1051	452	1067	1293	9	4	10	11
	140	1172	1009	1789	1290	11	9	17	11
	210	915	698	1500	437	8	6	14	4

¹PAA – Padrão agrícola atual, PAF – Padrão agrícola forrageiro, IE – Intensificação ecológica. Resposta à adubação = [(Produtividade do tratamento adubado – Produtividade do tratamento controle) / Produtividade do tratamento controle] x 100.

5.2. Estoques de C e N total

Houve diferença nos estoques de C no solo na maioria das camadas de solo (Figura 2). Os sistemas de rotação (PAA, PAF e IE) alteraram mais significativamente os estoques de C do que as doses de N, sendo que na maioria das camadas de solo a IE apresentou maior estoque de C, seguido do PAF e, por último, do PAA. As maiores diferenças de estoque de C ocorreram nas camadas superficiais. Observa-se também que, o tratamento IE apresentou maior acúmulo de C inclusive nas camadas 20-40, 40-60 e 80-100 cm, demonstrando efeito em todo perfil de solo.

Figura 2. Estoques de C total no perfil de solo após oito anos sob diferentes sistemas de rotação (Padrão agrícola atual - PAA, Padrão agrícola forrageiro - PAF e Intensificação ecológica - IE) e doses de N milho (sem N, 70, 140 e 210 kg ha⁻¹ ano⁻¹), na região sul do Brasil. O intervalo das barras de erro representa dois erros padrão da média (n = 16 para as médias das culturas de cobertura, n = 8 para as médias das taxas N e n = 4 para as médias das doses dentro das coberturas). Letras minúsculas diferentes, dentro de uma mesma camada de solo, indicam haver diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,1$).

De forma semelhante ao observado para os estoques de C total, os sistemas de rotação promoveram mudanças significativas nos estoques de N total, enquanto os estoques de N total praticamente não sofreram alteração em função das doses de N (Figura 3).

Figura 3. Estoques de N total no perfil de solo após oito anos sob diferentes sistemas de rotação (Padrão agrícola atual, Padrão agrícola forrageiro e Intensificação ecológica) e doses de N no milho (sem N, 70, 140 e 210 kg ha⁻¹ ano⁻¹), na região sul do Brasil. O intervalo das barras de erro representa dois erros padrão da média (n = 16 para as médias das culturas de cobertura, n = 8 para as médias das taxas N e n = 4 para as médias das doses dentro das coberturas). Letras minúsculas diferentes, dentro de uma mesma camada de solo, indicam haver diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,1$).

5.3. N inorgânico e N orgânico dissolvido

Diferente do inicialmente esperado, não houve diferenças nos teores de N inorgânico entre os sistemas de rotação e até mesmo entre as doses de N, mesmo após oito anos de condução do experimento (Tabela 3). Houve somente redução nos teores de N inorgânico com a profundidade, o que já era esperado.

Tabela 3. N inorgânico ($\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$) e N orgânico dissolvido (NOD) no perfil de solo após oito anos sob diferentes sistemas de rotações de culturas (Padrão agrícola atual, PAA; Padrão agrícola com forragem, PAF e Intensificação ecológica, IE) e doses de N no milho (sem N, 70, 140 e 210 $\text{kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$), na região sul do Brasil¹.

Dose N	Rotação				Rotação			
	PAA	PAF	IE	Média	PAA	PAF	IE	Média
kg ha ⁻¹	----N inorgânico (kg ha ⁻¹)----				----N orgânico dissolvido (kg ha ⁻¹)----			
	-----0 – 10 cm-----							
0	15,7	16,6	17,3	16,5	31,1	33,4	36,7	33,8
70	15,2	15,0	17,2	15,8	29,7	26,1	32,0	29,2
140	18,1	16,5	17,7	17,4	30,6	29,2	32,7	30,7
210	16,0	15,7	15,8	15,8	30,6	26,7	28,3	28,6
Média	16,3	16,0	17,0		31,2	28,0	32,4	
P<0,01	Rotação (R): 0,131; Dose (D): 0,348 RxD: 0,905				Rotação (R):0,120; Dose (D): 0,174; RxD: 0,884			
CV (%)	Rotação: 12,87; Dose: 15,65				Rotação: 19,91; Dose: 16,97			
	-----10 – 20 cm-----							
0	5,7	5,4	5,5	5,5	25,8	25,3	23,1	24,8
70	5,4	5,4	5,6	5,5	24,5	27,2	25,1	25,8
140	6,1	5,6	5,8	5,8	28,8	22,3	27,7	26,2
210	5,3	5,4	5,1	5,3	25,8	27,7	24,2	25,9
Média	5,7	5,6	5,5		26,4	25,6	25,1	
P<0,01	Rotação (R): 0,712; Dose (D): 0,561; RxD: 0,977				Rotação (R):0,948; Dose (D): 0,930; RxD: 0,661			
CV (%)	Rotação: 14,63; Dose: 13,46				Rotação: 21,09; Dose: 18,25			
	-----20 – 40 cm-----							
0	8,2	9,7	12,4	10,1	55,6	59,2	69,4	61,3
70	9,4	9,7	11,3	10,1	55,6	66,2	63,1	61,6
140	9,6	10,5	10,4	10,1	54,8	60,6	52,2	55,7
210	8,5	9,4	11,0	9,5	58,5	67,8	57,5	61,3
Média	8,8	10,5	10,7		56,2	63,4	60,6	
P<0,01	Rotação (R): 0,026; Dose (D): 0,938; RxD: 0,342				Rotação (R):0,057; Dose (D): 0,654; RxD: 0,394			
CV (%)	Rotação: 20,05; Dose: 21,22				Rotação: 14,63; Dose: 13,23			
	-----40 – 60 cm-----							
0	7,4	6,9	5,6	6,6	59,2	54,6	52,3	55,3
70	8,3	6,9	5,4	6,9	58,0	54,1	53,6	55,6
140	8,6	7,7	6,2	7,5	57,2	55,4	53,3	55,3
210	8,6	7,7	5,9	7,5	56,9	59,3	52,5	56,1
Média	8,3 ^A	7,4 ^A	5,6 ^B		57,7	56,0	53,0	
P<0,01	Rotação (R): 0,001; Dose (D): 0,536; RxD: 0,975				Rotação (R):0,853; Dose (D): 0,780; RxD: 0,945			
CV (%)	Rotação: 16,25; Dose: 18,93				Rotação: 17,53; Dose: 18,73			
	-----60 – 80 cm-----							
0	5,0 ^b	6,4	4,5	5,4	36,2	39,2	40,6	38,8
70	5,3 ^{ab}	6,2	4,8	5,4	39,3	39,9	43,2	40,8
140	6,6 ^{ab}	4,9	4,5	5,4	38,0	40,2	41,9	40,1
210	7,1 ^{aA}	5,6 ^{AB}	4,5 ^B	5,9	38,5	40,0	37,3	38,5
Média	6,1 ^A	5,9 ^A	4,5 ^B		38,0	40,0	40,9	
P<0,01	Rotação (R): 0,001; Dose (D): 0,665; RxD: 0,004				Rotação (R):0,097; Dose (D): 0,723; RxD: 0,942			
CV (%)	Rotação: 13,94; Dose: 20,14				Rotação: 16,09; Dose: 17,82			
	-----80 – 100 cm-----							
0	2,8	3,3	3,4	3,1	39,5 ^A	37,6 ^{AB}	30,9 ^B	35,9
70	3,4	3,3	3,1	3,4	38,7	36,1	32,2	35,7
140	3,4	3,8	3,6	3,6	39,0	40,2	37,7	39,1
210	3,4	2,8	3,4	3,1	39,5	37,1	39,0	38,5
Média	3,1	3,3	3,4		39,0	37,6	34,8	
P<0,01	Rotação (R): 0,747; Dose (D): 0,182; RxD: 0,253				Rotação (R):0,014; Dose (D): 0,125; RxD: 0,226			
CV (%)	Rotação: 18,65; Dose: 13,73				Rotação: 14,02; Dose: 13,58			

¹Letras minúsculas distintas na coluna e letras maiúsculas distintas na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,1$).

5.4. Fertilidade do solo

Para os valores de pH, observa-se expressiva influência das doses de N, com decréscimo linear dos valores especialmente nas camadas mais superficiais (Figura 4). Se observa também, decréscimo do pH a medida em que a dose de N é elevada, sendo esta situação bem expressiva até os primeiros 10cm de profundidade. Valores médios nos tratamentos controle dos sistemas PAA e IE variaram de 5,5 na camada superficial e 4,4 na camada de 20-40cm, enquanto para PAF foram observados valores de pH de 4,5 na camada superficial e 4,2 na camada 20-40cm.

Corroborando aos resultados de pH, os teores de Al e H+Al apresentaram-se maiores no PAF, sendo que os teores de Al se mostram presentes já na camada de 0-5cm e foi três vezes maior na camada de 5-10 cm comparado aos sistemas PAA e IE (Figura 4).

A saturação de bases do solo apresentou diferenças significativas até a profundidade 10 cm (Figura 5). A CTC efetiva apresentou redução com o aumento da dose de N principalmente na camada de 5 cm, além de se observar diferença marcante de PAF comparada as demais rotações.

Figura 5. Valores de Capacidade de troca catiônica (CTC) efetiva, Capacidade de troca catiônica (CTC) potencial e Saturação de bases nas camadas 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, após oito anos sob diferentes sistemas de rotação (PAA – Padrão agrícola atual, PAF – Padrão

agrícola forrageiro, IE – Intensificação ecológica) e doses de N no milho (sem N, 70, 140 e 210 kg ha⁻¹ ano⁻¹).

Teores de Ca observados na camada de 0-5 cm variaram de 37 mmol_c dm³ no IE a 21 mmol_c dm⁻³ no PAF, sendo que o mesmo comportamento de diferença em valores é observado na camada de 5-10 cm (Figura 6). Os teores de Mg também apresentam comportamento semelhante ao do Ca até a camada de 5-10 cm, com diferença de 8 mmol_c dm³ entre IE e PAF na camada 0-5cm.

Com exceção da profundidade de 0-5 cm em PAF, que apresentou aumento nos teores de K no solo com o aumento da dose de N (Figura 6), ocorreu declínio nos teores de K com o aumento das doses de N nos demais sistemas, com maior destaque para o PAA.

Figura 6. Valores de Ca, Mg e K nas camadas 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, após oito anos sob diferentes sistemas de rotação (PAA – Padrão agrícola atual, PAF – Padrão agrícola forrageiro, IE – Intensificação ecológica) e doses de N no milho (sem N, 70, 140 e 210 kg ha⁻¹ ano⁻¹).

Os teores de micronutrientes não apresentaram efeito direto das doses de N e nem dos sistemas de rotação, se mostrando mais influenciados por outros fatores de manejo e condições químicas afetadas pelo pH do solo (Figura 7).

Figura 7. Valores de Zn, Cu e Mn nas camadas 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, após oito anos sob diferentes sistemas de rotação (PAA – Padrão agrícola atual, PAF – Padrão agrícola forrageiro, IE – Intensificação ecológica) e doses de N no milho (sem N, 70, 140 e 210 kg ha⁻¹ ano⁻¹).

Embora os teores de P-resina não apresentaram efeito de ganhos ou perdas mediante as doses de N, seu uso é de importância para a manutenção e ciclagem de P evitando o empobrecimento de P prontamente disponível no solo e a maior ciclagem do P extraído pelas culturas de cobertura (Figura 8).

Figura 8. Teores de P-resina nas camadas 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, após oito anos sob diferentes sistemas de rotação (PAA – Padrão agrícola atual, PAF – Padrão agrícola forrageiro, IE – Intensificação ecológica) e doses de N no milho (sem N, 70, 140 e 210 kg ha⁻¹ ano⁻¹).

6. DISCUSSÃO

A capacidade de fornecimento de N pelas leguminosas é bem estabelecida em diversos ambientes e principalmente em regiões subtropicais (Aita et al., 2001; Amado et al., 2002; Giacomini et al., 2004; Silva et al., 2006). No presente estudo, a rotação PAF, apesar de apresentar rendimentos menores comparados às rotações PAA e IE nas primeiras safras, apresentou evolução de produtividade a partir da safra 16/17 quando se fez aplicação de calcário e ocorreu a mudança nas cultivares utilizadas de azevém e aveia branca, utilizando cultivares de ciclo mais precoce, assim, apresentando ganho de produtividade e menor taxa de resposta às doses de N. Este resultado é um indicativo de que, a longo prazo, as gramíneas de cobertura quando posicionadas de maneira correta, são capazes de promoverem preservação de N no sistema uma vez que com o corte da parte aérea e a realização da adubação nitrogenada é capaz de promover maior formação de raízes finas, principalmente na camada superficial. De fato, o extenso sistema radicular de gramíneas crescendo como cultura de cobertura é responsável pela absorção do N de camadas mais profundas do solo, aumentando a permanência do N inorgânico nos sistemas de produção (Rosolem et al., 2017).

Com os resultados da safra 16/17, é possível observar a capacidade de resiliência dos sistemas de rotação, em que PAF apresentou aumento de produtividade, enquanto PAA sofreu redução nos patamares de produtividade comparado às safras 12/13 e 14/15. Ainda na safra 16/17, a IE apresentou menor produtividade comparado ao PAF, reforçando a hipótese de que a rotação de culturas com gramíneas aumenta a capacidade de resistência a possíveis intempéries climáticas. A resposta à adubação seguiu à ordem PAA > PAF > IE (Tabela 2), indicando que sistemas integrados de produção, com rotação de culturas entre gramíneas e leguminosas, tem potencial de aumentar a disponibilidade ou a permanência de N no sistema solo-planta, reduzindo a resposta à adubação nitrogenada. Outro aspecto importante é a redução da resposta à adubação com o decorrer das safras para a rotação PAF, que mesmo com a retirada da parte aérea das plantas de cobertura, reduziu a resposta à adubação nitrogenada comparado ao PAA, isso se explica em função do estímulo realizado com o corte da parte aérea e aplicação de N em cobertura, promovendo assim, maior formação de raízes finas no sistema e consequentemente maior estruturação para atingir maiores produtividades da cultura de verão. Ou seja, o cultivo de azevém para produção de silagem, possivelmente aumentou a disponibilidade de N no sistema solo planta, apesar da retirada de uma fração do N acumulado por meio da colheita da parte aérea do azevém.

O maior incremento de produtividade proporcionado pela adubação nitrogenada no tratamento PAA, assim como maior resposta à adubação nitrogenada, é um reflexo da fixação

de N pelas leguminosas cultivadas em rotação no tratamento IE, que possivelmente aumentaram a disponibilidade de N no solo, resultando em menor demanda do N-fertilizante no milho. A redução da resposta ao N observada no PAF, a partir da safra 16/17, é um indicativo que pode estar ocorrendo associação com microrganismos no sistema radicular das gramíneas, ou até mesmo crescimento radicular em profundidade recuperando frações de N inorgânico que não estariam mais acessíveis ao sistema radicular da cultura principal (milho). Evidências de menor perda por lixiviação em sistemas de rotação com gramíneas foram observados por Rosolem et al. (2017). Por fim, os resultados indicam que não somente a rotação com leguminosas tem potencial de aumentar o potencial de produção e reduzir a resposta ao N, mas também rotação com gramíneas.

A rotação IE apresentou maior acúmulo de C em profundidade até a camada de 80-100 cm, comparado as rotações PAA e PAF que detinham apenas gramíneas como plantas de cobertura (Figura 2), resultados condizentes com trabalhos em experimentos de longa duração de Veloso et al., (2018) e Albuquerque et al., (2015) em ambientes subtropicais. No entanto, estes resultados contrastam os de Redin et al. (2018), assim como os de Santos et al. (2011), que observaram que a aveia preta melhorou o armazenamento de C no solo após 17 e 21 anos de rotação de culturas comparado a cultivos que tinham ervilhaca no sistema de rotação. Porém, a grande atuação das raízes das gramíneas de cobertura é observada na rotação PAF que, mesmo sofrendo o corte da parte aérea apresentou mais acúmulo de C no solo em todas as camadas comparada à rotação PAA, que permanecia com a parte aérea por mais tempo viva no sistema. Isso reforça a hipótese da importante atuação das raízes, regendo fortemente no acúmulo de C, abordado por Santos et al. (2011), visto que as gramíneas forrageiras, quando cortadas e adubadas, aumentam a quantidade de raízes finas principalmente na camada mais superficial do solo.

O acúmulo de C no solo é influenciado pelos vários processos de entradas e saídas de C do sistema, que são dinâmicos e ocorrem simultaneamente. Portanto, maiores estoques de C em determinados tratamentos possivelmente não estão associados unicamente à biomassa da planta de cobertura, mas também a qualidade do material. Esta hipótese justifica os maiores estoques de C na rotação IE comparado às demais rotações, que continham apenas gramíneas que, segundo evidências da literatura, tem maior potencial de acumular C em profundidade no solo. Uma possível explicação é a maior entrada de C através das raízes do milho e da biomassa da parte aérea quando cultivado após a ervilha forrageira na camada superficial do solo, além de que a ervilha não sofreu corte e desenvolve maior volume de raízes quando comparado aos

demaís sistemas. A biomassa acima do solo do milho está diretamente correlacionada com o rendimento de grãos do milho (Donald e Hamblin, 1976; Huehn, 1993), e isso pode ser extrapolado para a biomassa da raiz (Bolinder et al., 1997). Desse modo, a maior entrada de C através da biomassa da parte aérea e do sistema radicular do milho na rotação IE juntamente com a ervilha forrageira, possivelmente proporcionaram maiores acúmulos de C quando comparado às rotações que tiveram gramíneas.

Diferente do observado para o efeito dos sistemas de rotação, as doses de N pouco afetaram os estoques de C no solo nos três sistemas de rotação (Figura 2). Exceto para a camada 0-10 cm, em que o tratamento controle (sem N) apresentou estoque de N ligeiramente inferior às demais doses de N para os três sistemas de rotação, nas demais camadas não houve efeito das doses de N no estoque de C do solo. Esses resultados são intrigantes por dois motivos. Primeiro, há uma relação estequiométrica entre o acúmulo de C e N no solo, ou seja, para que haja maior incorporação de C em formas estáveis da matéria orgânica do solo (MOS), o suprimento de N é necessário para adequada atividade dos microrganismos decompositores (Moreira e Siqueira, 2006; Brandani e Santos, 2016). Segundo, as doses de N proporcionaram aumento significativo da produção de grãos de milho em todos os sistemas de rotação (Figura 1). Com isso, é muito provável que a produção de resíduos da parte aérea e do sistema radicular também tenham sido incrementados pela adubação nitrogenada, culminando com maior aporte de C ao solo. Entretanto, o efeito positivo dos sistemas de rotação de culturas e a ausência de efeito das doses de N no acúmulo de C do solo dão um indicativo de que outros fatores como o tempo de adoção do sistema e o aporte anual de resíduos, além do suprimento de N, contribuíram para o maior estoque de C nos tratamentos com maior intensificação de cultivos (PAF e IE).

O efeito da adubação nitrogenada no acúmulo de C do solo é um assunto controverso e os resultados deste estudo comprovam a dificuldade em se estabelecer uma relação clara entre suprimento de N por meio de fertilizantes sintéticos e o estoque de C do solo. Ao mesmo tempo em que a adubação nitrogenada aumentou a produção de biomassa da parte aérea, possivelmente o excedente de N não absorvido pelas plantas pode ter estimulado a ação de microrganismos decompositores (Dou et al., 2008), de tal forma que o balanço do estoque de C tenha sido neutro quando comparamos a ausência de adubação e os tratamentos com maiores doses de N. Khan et al. (2007) observaram que, apesar do aumento na entrada de C de resíduos culturais, houve declínio no estoque de C do solo quando as doses de N aplicadas superaram as quantidades removidas pela colheita. O N fornecido através das plantas de cobertura, em formas

orgânicas de lenta mineralização, possivelmente tenha sido mais efetivo na sustentação da população de microrganismos decompositores, sem grandes oscilações em sua população e atividade, de tal forma a promover maior estoque de C do solo ao longo dos oito anos de cultivo. Essa hipótese está alinhada com evidências apresentadas por Ladha et al. (2011), de que sistemas integrados de produção (rotação de culturas), além da adubação orgânica ou organomineral, apresentam maior potencial de aumentar o estoque de C no solo do que propriamente os fertilizantes minerais sintéticos.

O efeito mais pronunciado dos sistemas de rotação do que as doses de N no acúmulo de N total no solo está possivelmente relacionado ao aporte de biomassa vegetal contendo C e N em proporções estáveis, tanto pela parte aérea quanto sistema radicular do milho e das demais culturas em rotação. O fato de doses elevadas de N não promoverem maiores acúmulos de N total, ou, até mesmo, causarem leve declínio nos estoques de N total, podem estar relacionados ao aumento da atividade biológica promovido pelo excedente de N na solução de solo, como também observado por Mulvaney et al. (2009). Por fim, a existência de relação estequiométrica entre o conteúdo de C e N na matéria orgânica do solo (Tipping et al., 2016) justifica, por um lado, o comportamento similar de estoque de C e N total no solo em função da rotação de culturas e, por outro, o efeito limitado do suprimento excessivo de N na incorporação de C e N na MOS. Os resultados deste estudo deixam claro que o cultivo de leguminosas em rotação apresenta maior potencial em aumentar os estoques de C e N total no solo do que a intensificação no uso de fertilizantes nitrogenados. A diferença possivelmente está relacionada à velocidade de liberação do N, muito mais lenta no caso dos resíduos vegetais comparado à liberação do N dos fertilizantes nitrogenados.

Normalmente, quando leguminosas são cultivadas em rotação, há aumento do estoque de N inorgânico em virtude do processo de decomposição e mineralização de N dos resíduos culturais, normalmente ricos em N (Thapa et al., 2018). Uma possível explicação é que, no sistema de rotação IE, a maior produtividade do milho cultivado em rotação com a leguminosa (ervilha) de inverno possa ter contribuído para diminuição dos estoques de N inorgânico no solo. Ao menos esse foi o comportamento encontrado por Tenelli et al. (2019), analisando dois solos cultivados com cana-de-açúcar, um previamente cultivado com leguminosas e outro mantido em pousio. Naquele estudo, a maior produtividade da cana-de-açúcar no tratamento com cultivo de leguminosa, comparado ao pousio, explicou os teores semelhantes de N inorgânico na área com cultivo anterior de leguminosa, apesar dos maiores acúmulos de N na biomassa da leguminosa cultivada em rotação. Mesmo não havendo diferença

entre os teores de NID, os resultados são semelhantes aos obtidos por Salinas-Garcia et al (1997), em áreas de SPD com adubação nitrogenada até a camada de 20 cm. Os autores ainda relatam não obterem diferença quando as doses de N foram alteradas. Assim como sugerido por King e Hofmockel (2017) esses resultados indicam que sistemas de cultivo diversificados e com leguminosas têm o potencial de reduzir a dependência de fertilizantes N, visto que tais ambientes receberam menor taxa de fertilizante nitrogenado comparado ao PAA e PAF e se mantiveram com níveis de NID iguais.

Apesar de também não ter sido observada variação nos teores de NOD em função dos sistemas de rotação e doses de N, é interessante observar que os teores de NOD foram bastante superiores aos teores de N inorgânico em todas as camadas avaliadas, com destaque para as maiores diferenças encontradas nas camadas mais profundas. Este resultado está condizente com as observações de Lehmann et al. (2004), de que o NOD é uma fração importante de transporte de N em perfil de Latossolos. O NOD é composto por uma série de frações orgânicas de N, em diferentes graus de labilidade e sujeito a diferentes graus de transformações (Mariano et al., 2016). O fato dos teores de NOD observados neste estudo representarem, em média, 82% do teor de NDT, demonstra a importância do melhor entendimento desta fração de N orgânico do solo, que normalmente não é avaliada apesar da sua aparente importância nos processos de transporte de N no perfil de solo.

O PAF apresentou níveis de pH menores quando comparado aos demais sistemas de rotação. Com a realização do corte do azevém e da aveia preta no PAF, existe a nova aplicação de N via cobertura e há redução na entrada de resíduos, o que reduz as taxas de ciclagem, além de menor tamponamento do solo quando pouca palha é decomposta e mineralizada. Lange et al. (2006) encontraram redução nos valores de pH quando compararam doses de N e quantidade de palha no sistema produtivo, observando influência mais significativa até os 20cm de profundidade e redução linear até os 40 cm. Blevins et al. (1977) e Staley e Boyer (1997) também relatam redução do pH do solo até 15 cm de profundidade devido à aplicação de N, em áreas cultivadas em SPD. Os resultados de pH demonstram que a acidificação do solo provocada por adubos nitrogenados não se restringe à camada superficial, mas afeta também camadas mais profundas. O fato de, durante a condução do estudo, ter sido realizada uma única aplicação de calcário no meio do ciclo, porém em dose semelhante em todos os sistemas de rotação, pode ter acentuado a diferenciação de pH entre os tratamentos.

A principal razão da redução do pH e aumento do Al^{3+} com as doses de N é o processo de nitrificação, no qual há liberação de dois átomos de H^+ quando cada molécula de $N-NH_4^+$ é

oxidado a N-NO_3^- pelos microrganismos nitrificadores (Cantarella, 2007). Os íons H^+ liberados no sistema passam a ocupar as cargas negativas existentes nas partículas coloidais do solo, enquanto o ânion NO_3^- pode formar pares iônicos com os cátions liberados do complexo de troca catiônica, os quais podem ser lixiviados com o fluxo descendente de água (Lange et al., 2006; Fernandes et al., 2007).

Quando três sistemas de rotação são comparados, o PAF apresenta valores de saturação por bases cerca de 50% inferior aos demais. Esse efeito é atribuído, além das aplicações continuadas de N-fertilizante, ao corte das plantas de cobertura no PAF que aumenta a exportação de nutrientes, reduz a ciclagem de nutrientes e o acúmulo de MOS. Paiva (1990) observou que a aplicação anual de $90 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$, como sulfato de amônio, reduziu em cerca de 20% a saturação por bases do solo após sete anos de cultivo de milho em SPD. O valor médio da saturação por bases para PAF até 20 cm foi de aproximadamente 25% evidenciando que, após 8 anos neste sistema de manejo, há a necessidade de correção da acidez do solo, o que também se explica pelos valores de pH baixo. Lange et al. (2006) e Caires e Milla (2016), também encontraram redução na saturação de bases na camada superficial do solo a medida em que houve aumento da dose de N, ou seja, sistemas intensivos de produção, especialmente com remoção da parte aérea das culturas de cobertura para alimentação de animais, requerem um manejo eficiente de corretivos da acidez para evitar a acidificação do solo e esgotamento da fertilidade do solo. Esta diferença é justificada na rotação PAF em virtude do corte da parte aérea das plantas de cobertura no inverno (aveia preta e azevém), aumentando a exportação do nutriente, enquanto em IE e PAA mantem-se maior aporte de resíduos na superfície do solo, contribuindo para a ciclagem de nutrientes.

Apesar do significativo volume de raízes de plantas de cobertura, normalmente maior quantidade de nutrientes é alocada na parte aérea dos cultivos. Em um ambiente semelhante do presente estudo, Wolschich et al. (2016) observaram produção de massa de matéria seca de aveia preta de 10 t ha^{-1} na parte aérea e $4,5 \text{ t ha}^{-1}$ nas raízes. Porém, diferenças maiores foram observadas para acúmulo de nutrientes, sendo que na parte aérea foi acumulado $41 \text{ kg ha}^{-1} \text{ Ca}$ e $38 \text{ kg ha}^{-1} \text{ Mg}$, enquanto nas raízes somente $2 \text{ kg ha}^{-1} \text{ Ca}$ e $8 \text{ kg ha}^{-1} \text{ Mg}$, justificando os menores teores de nutrientes no PAF. A variação de doses de N também influenciou significativamente nos teores de Ca e Mg, especialmente até 10 cm de profundidade, com redução dos teores à medida que se elevou a dose de N. Os menores teores de Ca e Mg podem estar relacionados ao maior acúmulo e exportação destes nutrientes com o aumento das doses de N, assim como o processo de acidificação causado pela adubação nitrogenada. Segundo Pavan e Oliveira (1997), a acidificação do solo promovida pela adubação nitrogenada faz com

que parte das cargas do solo sejam ocupadas pelo Al, impedindo a adsorção de cátions básicos. Assim, os cátions básicos tornam-se mais suscetíveis a serem lixiviados, resultando em menores teores de Ca e Mg nas maiores doses de N.

O aumento dos teores de K na camada superficial (0-5 cm), proporcionado pela adubação nitrogenada, possivelmente está relacionado à maior deposição de resíduos culturais na superfície do solo nos tratamentos que receberam mais N. Como o K^+ não faz parte de compostos orgânicos na planta (Epstein e Bloom, 2006), é facilmente liberado dos resíduos vegetais para a solução do solo. Por outro lado, a redução dos teores de K com o aumento das doses de N, em profundidade, pode estar associado à maior remoção do K das camadas mais profundas do solo, promovendo sinergismo para permitir maiores produtividades nos tratamentos que receberam maiores doses de N. O enriquecimento da camada superficial com nutrientes, em detrimento de um empobrecimento das camadas mais profundas, não é raro de ocorrer em ambiente com intensa rotação de culturas na entressafra (Rosolem et al., 2017). Outro fator que pode estar associado ao declínio dos teores de K com as doses de N, em profundidade, refere-se à acidificação proporcionada pela adubação nitrogenada. Os íons H^+ e Al^{3+} liberados pela acidificação são preferencialmente adsorvidos na CTC do solo em detrimento do íon K^+ , que por sua vez é deslocado para a solução do solo ficando mais sujeito às perdas por lixiviação (Raij et al., 1991).

Os maiores teores de K no solo no PAA em comparação ao IE pode estar relacionado ao fato de que gramíneas absorvem mais facilmente K que as leguminosas, em virtude de possuírem baixa CTC de raízes e absorverem formas de K^+ mesmo de formas não disponíveis. Nesse sentido, além de obter maior produção de biomassa comparado a culturas leguminosas (tremoço e ervilhaca), a aveia preta aumentou significativamente a disponibilidade de K na superfície do solo, após 23 anos de cultivo sobre plantio direto e rotação de culturas (Tiecher et al., 2017). No presente estudo, por acessar formas não disponíveis de K no solo, possivelmente a aveia preta absorveu maiores quantidade de K, aumentando a ciclagem deste elemento ao longo dos oito anos de cultivo.

De forma indireta, as doses de N exerceram influência na disponibilidade de Zn, Cu e Mn apenas na camada de 0-5 cm do PAF em comparação aos outros sistemas, correlacionando com o baixo pH do solo em virtude da acidificação, estando em uma faixa que promove maior disponibilidades desses micronutrientes na solução do solo (Malavolta, 1979). Em outras palavras, os aumentos na disponibilidade de determinados micronutrientes, como o Zn e Cu, podem ter sido causados indiretamente pela redução do pH nos tratamentos com maiores doses de N.

Além disso, apesar de existirem poucos trabalhos abordando o impacto a longo prazo das rotações de culturas nos teores de micronutrientes, é amplamente conhecida a importância de se possuir quantidade e qualidade de resíduos sob o solo, que atuando com grande atividade radicular podem aumentar sua disponibilidade por meio da liberação de ácidos orgânicos que reduzem o pH da rizosfera, assim promovendo a manutenção de teores favoráveis para cultivos futuros (Pavinato e Rosolem, 2008).

Fornari (2017), avaliando os teores e frações de P em SPD cultivados com diferentes plantas de cobertura, observou pequena alteração ou até mesmo ausência de alteração nos teores de P, independente da planta de cobertura cultivada, mesmo após 29 anos de manejo. O mesmo ocorreu com Beltrán et al. (2016), não observando diferença na concentração de P em diferentes sistemas de rotação. Por outro lado, Santi et al. (2003) avaliaram o efeito da adubação nitrogenada na produção de fitomassa, quantidade de nutrientes acumulados e relação C/N dos resíduos produzidos pela aveia-preta, e constataram que com a aplicação de 120 kg ha^{-1} de N na forma de ureia, a quantidade de P ciclado pela massa seca da parte aérea foi de aproximadamente 12 kg ha^{-1} , o que significou 4 kg ha^{-1} de P a mais em relação ao tratamento sem adubação nitrogenada. Esse aumento corresponde a um incremento de 68% da ciclagem de P pela planta de cobertura, sem considerar a ciclagem promovida pelas raízes da aveia-preta, o que hipoteticamente promoveria um incremento ainda maior.

Casali (2012) destaca as diferentes formas de atuação das plantas de cobertura seja para absorção de P ou sua liberação na decomposição de resíduos, sendo que no estudo a ervilhaca, leguminosa avaliada, possuiu a maior capacidade de acumular P no tecido, principalmente em formas solúveis, associado ao resíduo, com elevada taxa de decomposição, enquanto que o centeio, gramínea, embora com menor teor de P no tecido, por produzir elevada quantidade de massa seca e com maior acúmulo de P inorgânico, o que independe da mineralização do resíduo para a sua liberação, assim mostrando a equivalência na manutenção do teores de P sobre diferentes estratégias que as plantas de cobertura possuem. Casali (2012) ainda sugere que o uso de plantas de cobertura não pode ser visto como uma alternativa para substituir as adições de P por meio de fertilizantes fosfatados, mas sim como uma técnica complementar para reaproveitar o P já adicionado ao solo. Além de não provocar aumento direto nos teores de P, as plantas de cobertura não promoveram distribuição de P em profundidade, ficando o mesmo alocado na camada de aplicação, assim justificando os maiores teores observados até 20 cm de profundidade.

7. CONCLUSÕES

A adubação nitrogenada promoveu ganhos de produtividade nos três sistemas de rotação, porém de forma muito mais acentuada no padrão agrícola atual comparado ao padrão agrícola com forragem e intensificação ecológica. Porém, apesar dos aumentos de produtividade, as doses de N não promoveram maior estoque de C e N total no perfil de solo ao final de 8 anos de cultivo. Para esta finalidade, a intensificação de cultivos, ou seja, a inclusão de maior diversidade de espécies no sistema, permitiu aumentar os estoques de C e N total não somente na camada superficial, mas em todo o perfil de solo.

Embora as doses de N não tenham aumentado os teores de N inorgânico do solo no perfil de solo, deve-se atentar à fração N orgânico dissolvido, que apresentou teores constantes em todo o perfil de solo e em níveis muito mais elevados do que a própria fração de N inorgânico. Estudos futuros devem elucidar os mecanismos de retenção e fluxo de NOD em solos tropicais.

A intensificação de cultivos, associados à redução nas doses de N para obtenção de máximas produtividades, é uma estratégia viável não somente para reduzir nossa dependência de fertilizantes nitrogenados sintéticos, mas também para aumentar os estoques de C e N total no solo e a fertilidade do solo em sistemas de produção da região sul do Brasil. Por fim, a rotação de culturas tem maior potencial de promover aumento nos estoques de C e N no solo do que a intensificação no uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos.

REFERÊNCIAS

- Aita, C., Basso, C.J., Ceretta, C.A., Gonçalves, C.N., Da Ros, C.O., 2001. Plantas de cobertura de solo como fonte de nitrogênio ao milho. *Rev. Bras. Ciência do Solo* 25, 157–165. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832001000100017>
- Alburquerque, M.A., Dieckow, J., Sordi, A., Piva, J.T., Bayer, C., Molin, R., Pergher, M., Ribeiro-Junior, P.J., 2015. Carbon and nitrogen in a Ferralsol under zero-tillage rotations based on cover, cash or hay crops. *Soil Use Manag.* 31, 1–9. <https://doi.org/10.1111/sum.12173>
- Alvarenga, R.C., Cabezas, W.A.L., Cruz, J.C., Santana, D.P. Plantas de cobertura de solo para sistema plantio direto. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 22, n. 208, p. 25-36, 2001.
- Alves, B.J.R., Zotarelli, L., Fernandes, F.M., Heckler, J.C., de Macedo, R.A.T., Boddey, R.M., Urquiaga, S. 2006. Fixação biológica de nitrogênio e fertilizantes nitrogenados no balanço de nitrogênio em soja, milho e algodão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41, 449-456. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000300011>
- Amado, T.J.C., Mielniczuk, J., Aita, C., 2002. Recomendação de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo, sob sistema plantio direto. *Rev. Bras. Ciência do Solo* 26, 241–248. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832002000100025>
- Aparecido, L.E.O., Rolim, G. de S., Richetti, J., Souza, P.S., Johann, J.A., 2016. Köppen, Thornthwaite and Camargo climate classifications for climatic zoning in the State of Paraná, Brazil. *Ciência e Agrotecnologia* 40, 405–417. <https://doi.org/10.1590/1413-70542016404003916>
- Baumhardt, R.L., Stewart, B.A., Sainju, U.M. 2015. North American Soil Degradation: Processes, Practices, and Mitigating Strategies. *Sustainability*. 7, 2936-2960. <https://doi.org/10.3390/su7032936>
- Beltrán M.J., Brutti, L., Romaniuk, R., Bacigaluppo, S., Salvagiotti, F., SainzRozas, H., Galantini, J.A., 2016 Calidad de la materia orgánica y disponibilidad de macro y micronutrientes por la inclusión de trigo como cultivo de cobertura. *Cienc Suelo*. 34, 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.still.2018.04.014>
- Blevins, R.L., Thomas, G.W., Cornelius, P.L., 1977. Influence of No-tillage and Nitrogen Fertilization on Certain Soil Properties after 5 Years of Continuous Corn 1. *Agronomy Journal*. 69, 383 386. <https://doi.org/10.2134/agronj1977.00021962006900030013x>
- Blevins, R.L., Thomas, G.W., Smith, M.S., Frye, W.W., Cornelius, P.L., 1983. Changes in soil properties after 10 years continuous non-tilled and conventionally tilled corn. *Soil Tillage Res* 3, 135–146. [https://doi.org/10.1016/0167-1987\(83\)90004-1](https://doi.org/10.1016/0167-1987(83)90004-1)

- Boer, C.A., Assis, R.L., Silva, G.P., Braz, A.J.B.P., Barros, A.L.L., Cargnelutti Filho, A., Pires, F.R., 2007. Ciclagem de nutrientes por plantas de cobertura na entressafra em um solo de cerrado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42, 1269-1276. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2007000900008>
- Bolinder, M.A., Angers, D.A., Dubuc, J.P., 1997. Estimating shoot to root ratios and annual carbon inputs in soils for cereal crops. *Agric. Ecosyst. Environ.* 63, 61–66. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(96\)01121-8](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(96)01121-8)
- Brandani, C. B.; Santos, D. G. dos. Transformações do carbono no solo. 2016. In: Cardoso, E. J. B. N.; Andreote, F. D. Microbiologia do solo. 2 ed. Piracicaba, SP: ESALQ, 2016. 221 p.
- Cabrera, M.L., Beare, M.H., 1993. Alkaline persulfate oxidation for determining total nitrogen in microbial biomass extracts. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57, 1007–1012. <https://doi.org/10.2136/sssaj1993.03615995005700040021x>
- Caires, E.F., Milla, R., 2016. Adubação nitrogenada em cobertura para o cultivo de milho com alto potencial produtivo em sistema de plantio direto de longa duração. *Bragantia*, 75, 87-95..
- Cantarella, H. Nitrogênio. In: Novais, R.F.; Alvarez V., V.H.; Barros, N.F.; Fontes, R.L.F.; Cantarutti, R.B., Neves, J.C.L., eds. Fertilidade do solo. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p.422-423.
- Casali, C.A. Sistemas de culturas sob diferentes manejos por longa duração alteram as formas de fósforo do solo? 149 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, 2012.
- Campbell, C.A., Van den Bygaart, A.J., Grant, B., Zentner, R.P., McConkey, B.G., Lemke, R., Gregorich, E.G., Fernandez, M., 2007. Quantifying carbon sequestration in a conventionally tilled crop rotation study in southwestern Saskatchewan. *Canadian Journal Soil Science*. 87, 23–38. <https://doi.org/10.4141/S06-018>
- Chen, Z., Wang, H., Liu, X., Zhao, X., Lu, D., Zhou, J., Li, C., 2017. Changes in soil microbial community and organic carbon fractions under short-term straw return in a rice–wheat cropping system. *Soil and Tillage Research*, 165, 121-127. <https://doi.org/10.1016/j.still.2016.07.018>
- Chivenge, P., Vanlauwe, B., Gentile, R., Six, J., 2011. Comparison of organic versus mineral resource effects on short-term aggregate carbon and nitrogen dynamics in a sandy soil versus a fine textured soil. *Agriculture Ecosystems. Environment*. 140, 361–371. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2010.12.004>
- Collier, L.S., Maranhão, D.D.C., Arruda, E.M. Manejo da matéria orgânica do solo na região do cerrado. In: Flores, R.A., Cunha, P.P. (eds.). Práticas de manejo do solo para adequada nutrição de plantas no cerrado. Goiânia: Gráfica UFG, 2016. p. 191-224.

- CONAB, 2020. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v. 7 - Safra 2019/20 - Décimo primeiro levantamento, Brasília, 66p. agosto 2020. URL <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acessado em 14/08/2020.
- Contini, E., Mota, M.M., Marra, R., Borghi, E., Miranda, R.A., Silva, A.F., Silva, D.D., Machado, J.R.A., Cota, L.V., Costa, R.V., Mendes, S.M. 2019. Milho: caracterização e desafios tecnológicos. Brasília: Embrapa. (Desafios do Agronegócio Brasileiro, 2)
- Corbeels, M., Scopel, E., Cardoso, A., Bernoux, M., Douzet, J.M., Neto, M.S., 2006. Soil carbon storage potential of direct seeding mulch-based cropping systems in the Cerrados of Brazil. *Global Change Biology*. 12, 1773–1787. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01233.x>
- Costa, K.A.P., Faquin, V., Oliveira, I.P., Rodrigues, C., Severiano, E.C., 2008. Doses e fontes de nitrogênio em pastagem de capim marandu. I - Alterações nas características químicas do solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 32, 1591-1599. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832008000400023>.
- Crusciol, C.A.C., Nascente, A.S., Borghi, E., Soratto, R.P., Martins, P.O., 2015. Improving soil fertility and crop yield in a tropical region with palisade grass cover crops. *Agronomy Journal*, 107, 2271 - 2280. <https://doi.org/10.2134/agronj14.0603>.
- Deng, L., Peng, C., Zhu, G., Chen, L., Liu, Y., Shangguan, Z., 2018. Positive responses of belowground C dynamics to nitrogen enrichment in China. *Sci. Total Environ*. 616–617, 1035–1044. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.215>
- Diekow, J., Mielniczuk, J., Knicker, H., Bayer, C., Dick, D.P., Kögel-Knabner, I., 2005. Soil C and N stocks as affected by cropping systems and nitrogen fertilization in a southern Brazil Acrisol managed under no-tillage for 17 years. *Soil Till Res*. 81, 87-95. <https://doi.org/10.1016/j.still.2004.05.003>
- Donald, C.M., Hamblin, J., 1976. The Biological Yield and Harvest Index of Cereals as Agronomic and Plant Breeding Criteria. *Adv. Agron*. 28, 361–405. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60559-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60559-3)
- 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., et al. 2010. Multiseason recoveries of organic and inorganic nitrogen-15 in tropical cropping systems. *Soil Science Society of America Journal*. 74, 139–152. <https://doi.org/10.2136/sssaj2009.0192>
- Du, Z., Xie, Y., Hu, L., Hu, L., Xu, S., Li, D., ... & Fu, J. (2014). Effects of fertilization and clipping on carbon, nitrogen storage, and soil microbial activity in a natural grassland in southern China. *PLoS one*, 9(6), e99385.
- Duarte, A.P., Kappes, C. 2015. Evolução dos sistemas de cultivo de milho no Brasil. *Informações Agronômicas*, n. 152, p. 15-18.

- Dube, E., Chiduzza, C., Muchaonyerwa, P. High biomass yielding winter cover crops can improve phosphorus availability in soil. *South African Journal of Science*, v. 110, n. 3-4, p. 01-04, 2014.
- Duda, G.P., Guerra, J.G.M., Monteiro, M.T., De-Polli, H., Teixeira, M.G., 2003. Perennial herbaceous legumes as live soil mulches and their effects on C, N and P of the microbial biomass. *Scientia Agricola*. 60, 139-147. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162003000100021>
- Fernandes, F.C.S., Libardi, P.L., Silva, M.M., 2007. Efeito da adubação nitrogenada nas propriedades químicas de um Latossolo, cultivado com milho em sucessão à aveia-preta, na implantação do sistema plantio direto. *Acta Scientiarum*. 29, 639-647. <http://dx.doi.org/10.4025/actasciagron.v29i5.741>.
- Fonte, S.J., Quansah, G.W., Six, J., 2009. Fertilizer and residue quality effects on organic matter stabilization in soil aggregates. *Soil Science Society America Journal*. 73, 961–966. <https://doi.org/10.2136/sssaj2008.0204>
- Fornari, M.R., Solos com diferentes sistemas de manejo e rotação de culturas em longo prazo: flutuações nas frações de fósforo. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, 2017.
- Freibauer, A., Rounsevell, M.D.A., Smith, P., Verhagen, J., 2004. Carbon sequestration in the agricultural soils of Europe. *Geoderma* 122, 1 - 23. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.01.021>.
- Gava, G.J.C., Trivelin, P.C.O., Oliveira, M.W., Heinrichs, R., Silva, M.A. 2006. Balanço do nitrogênio da ureia (^{15}N) no sistema solo-planta na implantação da semeadura direta na cultura do milho. *Bragantia*, Campinas, v. 65, n. 3, p. 477-486.
- Giacomini, S.J., Aita, C., Chiapinotto, I.C., Hubner, A.P., Marques, M.G., Cadore, F., 2004. Consorciação de plantas de cobertura antecedendo o milho em plantio direto: II - Nitrogênio acumulado pelo milho e produtividade de grãos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 28, 751-762. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832004000400015>.
- Green, C.J., Blackmer, A.M., Horton, R., 1995. Nitrogen effects on conservation of carbon during corn residue decomposition in soil. *Soil Science Society America Journal*. 59, 453 - 459. <https://doi.org/10.2136/sssaj1995.03615995005900020026x>.
- Grossman, R.B., Reinsch, T.G., 2002. 2.1 Bulk Density and Linear Extensibility, in: Dane, J.H., Topp, C.G. (Eds.), *Methods of Soil Analysis: Part 4 Physical Methods*, SSSA Book Series SV - 5.4. Soil Science Society of America, Madison, WI, pp. 201–228. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.4.c9>.
- Harasim, E., Gawęda, D., Wesołowski, M., Kwiatkowski, C., Gocół, M. (2016). Cover cropping influences physic-chemical soil properties under direct drilling soybean. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science*, 66(1), 85-94.

- Havlin, J.L., Kissel, D.E., Maddux, L.D., Claassen, M.M., Long, J.H., 1990. Crop rotation and tillage effects on soil organic carbon and nitrogen. *Soil Science Society America Journal*. 54, 448 - 452. <https://doi.org/10.2136/sssaj1990.03615995005400020026x>
- Henryson, K., Sundberg, C., Kätterer, T., Hansson, P.E., 2018. Accounting for long-term soil fertility effects when assessing the climate impact of crop cultivation. *Agric Syst* 164, 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2018.03.001>.
- Huehn, M. Harvest index versus grain/straw-ratio. Theoretical comments and experimental results on the comparison of variation. *Euphytica*. 68, 27-32 (1993). <https://doi.org/10.1007/BF00024151>
- Jani, A. D., Grossman, J., Smyth, T. J., & Hu, S. 2016. Winter legume cover-crop root decomposition and N release dynamics under disking and roller-crimping termination approaches. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 31, 214 - 229. <https://doi.org/10.1017/S1742170515000113>.
- Jones, D.L., Willett, V.B., 2006. Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. *Soil Biol. Biochem.* 38, 991-999. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.08.012>
- Kassam, A., Friedrich, T., Derpsch, R., Kienzle, J. 2015. Overview of the worldwide spread of conservation agriculture. *Field actions science reports. Journal Field Actions*. 8, 1–10 doi: <https://factsreports.revues.org/3966>
- Khan, S.A., Mulvaney, R.L., Ellsworth, T.R., Boast, C.W., 2007. The myth of nitrogen fertilization for soil carbon sequestration. *J. Environ. Qual.* 36, 1821–32. <https://doi.org/10.2134/jeq2007.0099>
- King, A.E., Hofmockel, K.S. 2017. Diversified cropping systems support greater microbial cycling and retention of carbon and nitrogen. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 240, 66-76. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.01.040>
- Kinoshita, R., Schindelbeck, R.R., van Es, H.M. 2017. Quantitative soil profile-scale assessment of the sustainability of long-term maize residue and tillage management. *Soil and Tillage Research*. 174, 34-44. <https://doi.org/10.1016/j.still.2017.05.010>
- Kintché, K., Guibert, H., Sogbedji, J.M., Levêque, J., Bonfoh, B., Tittonell, P., 2014. Long-term mineral fertiliser use and maize residue incorporation do not compensate for carbon and nutrient losses from a Ferralsol under continuous maize-cotton cropping. *F. Crop. Res.* 184, 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.04.019>
- Ladha, J.K., Reddy, C.K., Padre, A.T., van Kessel, C., 2011. Role of Nitrogen Fertilization in Sustaining Organic Matter in Cultivated Soils. *J. Environ. Qual.* 40, 1756. <https://doi.org/10.2134/jeq2011.0064>

- Ladha, J.K.; Tirol-Padre, A.; Reddy, C.K.; et al. 2016. Global nitrogen budgets in cereals: A 50-year assessment for maize, rice, and wheat production systems. *Scientific Reports* 6: 19355.
- Lal, R. 2015. Restoring soil quality to mitigate soil degradation. *Sustainability*. 7, 5875-5895. <https://doi.org/10.3390/su7055875>
- Lange, A., Carvalho, J.L.N., Damin, V., Cruz, J.C., Marques, J.J., 2006. Alterações em atributos do solo decorrentes da aplicação de nitrogênio e palha em sistema semeadura direta na cultura do milho. *Ciencia Rural*, 36, 460-467. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782006000200016>.
- Lehmann, J., Lilienfein, J., Rebel, K., Carmo Lima, S., Wilcke, W., 2004. Subsoil retention of organic and inorganic nitrogen in a Brazilian savanna Oxisols. *Soil Use Manag.* 20, 163– 172. <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2004.tb00352.x>
- Lovato, T., Mielniczuk, J., Bayer, C., Vezzani, F., 2004. Adição de carbono e nitrogênio e sua relação com os estoques no solo e com o rendimento do milho em sistemas de manejo. *Rev. Bras. Ciência do Solo* 28, 175–187. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832004000100017>
- Luo, Z., Wang, E., Sun, O.J. 2010. Can no-tillage stimulate carbon sequestration in agricultural soils? A meta-analysis of paired experiments. *Agriculture, ecosystems & environment*. 139, 224 - 231. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2010.08.006>
- Malavolta, E. - ABC da Adubação. Editora Agronômica CERES Ltda. São Paulo (SP), 1979. 256 p.
- Mariano, E., Jones, D.L., Hill, P.W., Trivelin, P.C.O., 2016. Mineralization and sorption of dissolved organic nitrogen compounds in litter and soil from sugarcane fields. *Soil Biol. Biochem.* 103, 522–532. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.10.004>
- McDaniel, M.D., Tiemann, L.K., Grandy, A.S., 2014. Does agricultural crop diversity enhance soil microbial biomass and organic matter dynamics? A meta-analysis.
- Minasny, B., Malone, B.P., Mc Bratney, A.B., et al., 2017. Soil carbon 4 per mille. *Geoderma* 292, 59–86. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.01.002>.
- Miranda, K.M., Espey, M.G., Wink, D.A., 2001. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 5, 62–71. <https://doi.org/10.1006/niox.2000.0319>
- Moraes Sá, J.C., Séguy, L., Tivet, F., Lal, R., Bouzinac, S., Borszowski, P.R., Briedis, C., Dos Santos, J.B., Da Cruz Hartman, D., Bertoloni, C.G., Rosa, J., Friedrich, T., 2015. Carbon depletion by plowing and its restoration by no-till cropping systems in Oxisols of subtropical and tropical agro-ecoregions in Brazil. *Land Degradation and Development*. 26, 531–543. <https://doi.org/10.1002/ldr.2218>

- Moreira, F.M.S., Siqueira, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. 2. Ed., Lavras, MG: Editora UFLA. 2006. 729p.
- Mulvaney, R.L., 1996. Nitrogen - Inorganic Forms, in: Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A., Loeppert, R.H. (Eds.), *Methods of Soil Analysis Part 3 - Chemical Methods*. Soil Science Society of America, American Society of Agronomy, Madison, pp. 1123–1184. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c38>
- Mulvaney, R.L., Khan, S.A., Ellsworth, T.R., 2009. Synthetic nitrogen fertilizers deplete soil nitrogen: A global dilemma for sustainable cereal production. *Journal Environmental Quality*. 38, 2295–2314. <https://doi.org/10.2134/jeq2008.0527>
- Newman, Y. C., Wright, D. W., Mackowiak, C., Scholberg, J. M. S., & Cherr, C. M. (2007). Benefits of cover crops for soil health. University of Florida, IFAS Extension, SS AGR, 272.
- Nunes, M.R., van Es, H.M., Schindelbeck, R., Ristow, A.J., Ryan, M. 2018. No-till and cropping system diversification improve soil health and crop yield. *Geoderma*, 328, 30-43. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.04.031>
- Otto, Rafael. Fatores que afetam a resposta da cana-de-açúcar e milho ao nitrogênio. 2020. Tese (Livre docente) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo, 2020.
- Pacheco, L.P., Leandro, W.M., Machado, P.L.O.A., Assis, R.L., Cobucci, T., Madari, B.E., Petter, F.A., 2011. Produção de fitomassa e acúmulo e liberação de nutrientes por plantas de cobertura na safrinha. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 46, 17-25. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000100003>
- Paiva, P.J.R. Parâmetros de fertilidade de um solo do Paraná sob diferentes sistemas de manejo. 1990. 55f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Curso de Solos e Nutrição de Plantas, UFLA.
- Pavan, M.A.; Oliveira, E.L. Manejo da acidez do solo. Londrina: IAPAR, 1997. 86p. (IAPAR. Circular, 95).
- Pavinato, P. S., Rosolem, C. A., 2008. Disponibilidade de nutrientes no solo: decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32, 911-920. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832008000300001>.
- Pauletti, V., Motta, A.C.V., Manual de calagem e adubação para o estado do Paraná. 1 ed. Curitiba: Núcleo Estadual Paraná da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo – NEPAR-SBCS, 2017.
- Perin, A., Santos, R.H.S., Urquiaga, S., Guerra, J.G.M., Cecon, P.R., 2004. Produção de fitomassa, acúmulo de nutrientes e fixação biológica de nitrogênio por adubos verdes em cultivo isolado e consorciado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 39, 35-40. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2004000100005>

- Poffenbarger, H.J., Barker, D.W., Helmers, M.J., Miguez, F.E., Olk, D.C., Sawyer, J.E., Six, J., Castellano, M.J., 2017. Maximum soil organic carbon storage in Midwest US cropping systems when crops are optimally nitrogen fertilized. *PLoS ONE*. 12, e0172293. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172293>
- Raij, B. van. Fertilidade do solo e adubação. Piracicaba. Agronômica Ceres, Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1991. 343p.
- Raij, B. van, Andrade, J.C., Cantarella, H., Quaggio, J.A., 2001. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Instituto Agronômico, Campinas.
- Redin, M., Recous, S., Aita, C., Chaves, B., Pfeifer, I.C., Bastos, L.M., Pilecco, G.E., Giacomini, S.J., Redin, M., Recous, S., Aita, C., Chaves, B., Pfeifer, I.C., Bastos, L.M., Pilecco, G.E., Giacomini, S.J., 2018. Root and Shoot Contribution to Carbon and Nitrogen Inputs in the Topsoil Layer in No-Tillage Crop Systems under Subtropical Conditions. *Rev. Bras. Ciência do Solo* 42. <https://doi.org/10.1590/18069657rbcs20170355>
- Resende, A. V, Silva, C.G.M., Gutiérrez, A.M., Simão, E.P., Guimarães, L.J.M., Moreira, S.G., Borghi, E., 2016. Indicadores de demanda de macro e micronutrientes por híbridos modernos de milho, Circular Técnica 220. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas.
- Rosolem, C.A., Werle, R., Garcia, R.A., 2010. Nitrogen washing from C3 and C4 cover grasses residues by rain. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 34, 1899-1905. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832010000600014>
- Rosolem, C.A., Ritz, K., Cantarella, H., Galdos, M.V., Hawkesford, M.J., Whalley, W.R., Mooney, S.J., 2017. Enhanced plant rooting and crop system management for improved N use efficiency. *Advances in Agronomy*. 146, 205–239. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2017.07.002>
- Rousk, J., Jones, D.L., 2010. Loss of low molecular weight dissolved organic carbon (DOC) and nitrogen (DON) in H₂O and 0.5 M K₂SO₄ soil extracts. *Soil Biol. Biochem.* 42, 2331–2335. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2010.08.017>
- Salinas-Garcia, J.R., Hons, F.M., Matocha, J.E., Zuberer, D.A. 1997. Soil carbon and nitrogen dynamics as affected by long-term tillage and nitrogen fertilization. *Biology and Fertility of Soils*, 25(2), 182-188. <https://doi.org/10.1007/s003740050301>
- Salton, J.C., Mercante, F.M., Tomazi, M., Zanatta, J.A., Concenço, G., Silva, W.M., Retore, M., 2014. Integrated crop-livestock system in tropical Brazil: Toward a sustainable production system. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 190, 70–79. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.09.023>
- Santi, A., Amado, T.J.C., Acosta, J.A.A., 2003. Adubação nitrogenada na aveia preta. I - Influência na produção de matéria seca e ciclagem de nutrientes sob sistema plantio direto. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*. 27, 1075 - 1083. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832003000600012>.

- Santos, N.Z. dos, Dieckow, J., Bayer, C., Molin, R., Favaretto, N., Pauletti, V., Piva, J.T., 2011. Forages, cover crops and related shoot and root additions in no-till rotations to C sequestration in a subtropical Ferralsol. *Soil Tillage Res.* 111, 208–218. <https://doi.org/10.1016/j.still.2010.10.006>
- Sattolo, T.M.S., Mariano, E., Boschiero, B.N., Otto, R., 2017. Soil carbon and nitrogen dynamics as affected by land use change and successive nitrogen fertilization of sugarcane. *Agric. Ecosyst. Environ.* 247, 63–74. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.06.005>
- Scherr, S.J. The future food security and economic consequences of soil degradation in the developing world. In: *Response to Land Degradation*; Oxford Press: New Delhi, India, 2001; pp. 155–170.
- Silva, E.C. da, Muraoka, T., Buzetti, S., Trivelin, P.C.O., 2006. Manejo de nitrogênio no milho sob plantio direto com diferentes plantas de cobertura, em Latossolo Vermelho. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 41, 477 - 486. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000300015>
- Sisti, C.P.J., dos Santos, H.P., Kohhann, R., Alves, B.J., Urquiaga, S., Boddey, R.M. 2004. Change in carbon and nitrogen stocks in soil under 13 years of conventional or zero tillage in southern Brazil. *Soil & Tillage Research.* 76, 39-58. <https://doi.org/10.1016/j.still.2003.08.007>
- Snapp, S.S., Swinton, S.M., Labarta, R., Mutch, D., Black, J.R., Leep, R., O'Neil, K., 2005. Evaluating cover crops for benefits, costs and performance within cropping system niches. *Agronomy journal*, 97, 322-332.
- Staley, T.E., Boyer, D.G., 1997. Short-term carbon, nitrogen and pH alterations in a hill-land Ultisol under maize silage relative to tillage method. *Soil & Tillage Research.* 42, 115–126. [https://doi.org/10.1016/S0167-1987\(96\)01087-2](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(96)01087-2).
- Tenelli, S., de Oliveira Bordonal, R., Barbosa, L. C., & Carvalho, J. L. N. (2019). Can reduced tillage sustain sugarcane yield and soil carbon if straw is removed? *Bioenergy research*, 12(4), 764-777.
- Thapa, R., Mirsky, S.B., Tully, K.L., 2018. Cover crops reduce nitrate leaching in agroecosystems: A global meta-analysis. *J. Environ. Qual.* 47, 1400–1411. <https://doi.org/10.2134/jeq2018.03.0107>
- Thomas, R.J., Asakawa, N.M., 1993. Decomposition of leaf litter from tropical forage grasses and legumes. *Soil Biol Biochem.* 25, 1351 - 1361. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(93\)90050-L](https://doi.org/10.1016/0038-0717(93)90050-L).
- Tiecher, T., Calegari, A., Caner, L., Rheinheimer, D.S., 2017. Soil fertility and nutrient budget after 23-years of different soil tillage systems and winter cover crops in a subtropical Oxisol. *Geoderma.* 308, 78 - 85. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.08.028>

- Tipping, E., Somerville, C.J. & Luster, J. The C:N:P:S stoichiometry of soil organic matter. *Biogeochemistry* 130, 117–131 (2016). <https://doi.org/10.1007/s10533-016-0247-z>
- Torres, J.L.R., Pereira, M.G., Andrioli, I., Polidoro, J.C., Fabian, A.J., 2005. Decomposição e liberação de nitrogênio de resíduos culturais de plantas de cobertura em um solo de cerrado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 29, 609-618. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832005000400013>
- USDA. United States Department of Agriculture. World agricultural production. Disponível em: < <https://www.fas.usda.gov/data/world-agricultural-production> > . Acesso em: 15 jul. 2020.
- Varela, M. F., Barraco, M., Gili, A., Taboada, M. A., & Rubio, G., 2017. Biomass Decomposition and Phosphorus Release from Residues of Cover Crops under No-Tillage. *Agronomy Journal*, 109(1), 317-326.
- Veloso, M.G., Angers, D.A., Tiecher, T., Giacomini, S., Dieckow, J., Bayer, C., 2018. High carbon storage in a previously degraded subtropical soil under no-tillage with legume cover crops. *Agr Ecosyst Environ*. 268, 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.08.024>
- Zanatta, J.A., Bayer, C., Dieckow, J., Vieira, F.C.B., Mielniczuk, J., 2007. Soil organic carbon accumulation and carbon costs related to tillage, cropping systems and nitrogen fertilization in a subtropical Acrisol. *Soil Tillage Res*. 94, 510–519. <https://doi.org/10.1016/j.still.2006.10.003>
- Wolschick, N.H., Barbosa, F.T., Bertol, I., Dos Santos, K.F., De Souza R.W., Bagio, B. 2016. Cobertura do solo, produção de biomassa e acúmulo de nutrientes por plantas de cobertura. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 15, 134-143. <https://doi.org/10.5965/223811711522016134>.

APÊNDICES

APÊNDICE A. Procedimentos da coleta de solo para análises químicas: A. distribuição das profundidades e mistura das subamostras para composição da amostra final; B. Perfil de trado sonda coletado e posicionado para ser estratificado por profundidades; C. Equipe de trabalho durante as coletas realizadas.

APÊNDICE B. Coleta de amostras de densidade: A. Coleta de amostra sendo realizada com trado de amostra indeformada em anel volumétrico; B. Trado de caneca utilizado para posicionar o intervalo correto para coleta de amostra indeformada; C. Perfil das amostras de densidade coletadas nos pontos estabelecidos.

APÊNDICE C. Procedimentos laboratoriais. A. Determinação de umidade das amostras; B. Amostras pesadas para extração de formas de N; C. Fase final das extrações com filtragem dos extratos; D. Congelamento dos extratos para posterior determinação.

APÊNDICE D. Procedimentos de determinação das formas dissolvidas de N: A. Placas com as respectivas curvas padrão de amônio e nitrato; B. Equipamento utilizado para leitura das placas, espectrofotômetro automatizado Tecan® modelo Sunrise TM.

APÊNDICE E. Amônio (N-NH_4^+) e nitrato + nitrito ($\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$) no perfil de solo após oito anos sob diferentes sistemas de rotações de culturas (Padrão agrícola atual, PAA; Padrão agrícola com forragem, PAF e Intensificação ecológica, IE) e doses de N no milho (sem N, 70, 140 e 210 $\text{kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$), na região sul do Brasil¹.

Dose N (kg ha ⁻¹)	Rotação				Rotação			
	PAA	PAF	IE	Média	PAA	PAF	IE	Média
	-----N-NH ₄ ⁺ (mg kg ⁻¹)-----				-----N-NO ₃ ⁻ + NO ₂ ⁻ (mg kg ⁻¹)-----			
-----0 – 10 cm-----								
0	4,0	4,8	4,9 ^{ab}	4,6	6,3	6,6	7,2	6,7
70	3,6	4,3	5,2 ^a	4,4	6,5	5,9	6,7	6,4
140	4,3	5,2	4,3 ^{ab}	4,6	7,1	6,1	8,1	7,1
210	4,4	4,7	3,2 ^b	4,1	6,2	6,0	7,9	6,7
Média	4,1	4,7	4,4		6,6	6,2	7,5	
P<0,01	Rotação (R): 0,102; Dose (D): 0,552 RxD: 0,024				Rotação (R):0,012; Dose (D): 0,652; RxD: 0,835			
CV (%)	Rotação: 20,19; Dose: 21,05				Rotação: 17,85; Dose: 19,66			
-----10 – 20 cm-----								
0	1,5	1,3	1,4	1,4	2,4	2,6	2,5	2,5
70	1,4	1,2	1,5	1,4	2,2	2,7	2,4	2,4
140	1,5	1,4	1,5	1,5	2,7	2,5	2,6	2,6
210	1,3	1,4	1,4	1,4	2,3	2,5	2,0	2,3
Média	1,4	1,3	1,5		2,4	2,6	2,4	
P<0,01	Rotação (R): 0,103; Dose (D): 0,264; RxD: 0,376				Rotação (R):0,648; Dose (D): 0,710; RxD: 0,927			
CV (%)	Rotação: 10,18; Dose: 10,37				Rotação: 26,63; Dose: 26,78			
-----20 – 40 cm-----								
0	1,1 ^B	1,4 ^{AB}	1,7 ^{aA}	1,4 ^{ab}	1,7	3,0	1,8	2,1
70	1,3	1,5	1,6 ^{ab}	1,5 ^a	1,9	2,0	2,4	2,1
140	1,3	1,5	1,3 ^{ab}	1,4 ^{ab}	2,0	2,2	2,4	2,2
210	1,1	1,4	1,2 ^b	1,2 ^b	1,9	1,9	2,6	2,2
Média	1,2 ^B	1,5 ^A	1,4 ^A		1,9	2,3	2,3	
P<0,01	Rotação (R): 0,004; Dose (D): 0,042; RxD: 0,026				Rotação (R):0,149; Dose (D): 0,990; RxD: 0,175			
CV (%)	Rotação: 14,48; Dose: 15,10				Rotação: 20,75; Dose: 22,53			
-----40 – 60 cm-----								
0	0,8	0,9	0,8	0,8	1,7	1,6	1,2	1,5
70	0,9	0,8	0,7	0,8	1,7	1,6	1,3	1,6
140	1,2	0,9	0,7	0,9	1,7	1,8	1,5	1,7
210	1,1	0,9	0,8	0,9	1,8	1,9	1,3	1,7
Média	1,0	0,9	0,7		1,8 ^A	1,7 ^A	1,3 ^B	
P<0,01	Rotação (R): 0,019; Dose (D): 0,415; RxD: 0,507				Rotação (R):0,002; Dose (D): 0,754; RxD: 0,968			
CV (%)	Rotação: 26,72; Dose: 28,69				Rotação: 22,35; Dose: 25,64			
-----60 – 80 cm-----								
0	0,5	0,8	0,5	0,6	1,3 ^b	1,7	1,3	1,4
70	0,6	0,8	0,6	0,7	1,4 ^{ab}	1,6	1,2	1,4
140	0,9	0,5	0,5	0,6	1,5 ^{ab}	1,4	1,3	1,4
210	0,8	0,8	0,5	0,7	1,9 ^{aA}	1,4 ^b	1,3 ^b	1,5
Média	0,7	0,7	0,5		1,5	1,5	1,2	
P<0,01	Rotação (R): 0,058; Dose (D): 0,891; RxD: 0,129				Rotação (R):0,018; Dose (D): 0,641; RxD: 0,016			
CV (%)	Rotação: 21,68; Dose: 24,05				Rotação: 19,03; Dose: 20,76			
-----80 – 100 cm-----								
0	0,3	0,5	0,4	0,4	0,8	0,7	0,9	0,8
70	0,4	0,5	0,4	0,4	0,9	0,7	0,8	0,8
140	0,4	0,6	0,5	0,5	0,9	0,8	0,8	0,8
210	0,4	0,4	0,6	0,4	0,8	0,6	0,7	0,7
Média	0,4	0,5	0,5		0,8	0,7	0,8	
P<0,01	Rotação (R): 0,036; Dose (D): 0,501; RxD: 0,528				Rotação (R):0,035; Dose (D): 0,383; RxD: 0,605			
CV (%)	Rotação: 24,72; Dose: 26,95				Rotação: 17,04; Dose: 18,00			

APÊNDICE F. Teores de umidade (%) no perfil de solo após oito anos sob diferentes sistemas de rotações de culturas (Padrão agrícola atual, PAA; Padrão agrícola com forragem, PAF e Intensificação ecológica, IE), na região sul do Brasil.

Camada de solo (cm)	PAA	PAF	IE
	Umidade (%)		
0 - 10	17,19	17,38	17,65
10 - 20	15,26	18,15	15,82
20 - 40	17,90	19,64	18,43
40 - 60	19,20	18,73	18,97
60 - 80	17,69	17,85	18,00
80 - 100	18,37	19,49	19,19

APÊNDICE G. Densidade (t m^{-3}) no perfil de solo após oito anos sob diferentes sistemas de rotações de culturas (Padrão agrícola atual, PAA; Padrão agrícola com forragem, PAF e Intensificação ecológica, IE), na região sul do Brasil.

Camada de solo (cm)	PAA	PAF	IE
	Densidade do solo (t m^{-3})		
0 - 10	1,51	1,43	1,44
10 - 20	1,47	1,40	1,45
20 - 40	1,42	1,39	1,41
40 - 60	1,43	1,34	1,34
60 - 80	1,37	1,24	1,27
80 - 100	1,31	1,29	1,31