Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Adubação nitrogenada em cana-de-açúcar: efeitos na fertilidade do solo, transformações microbianas e estoques de carbono e nitrogênio

Thales Meinl Schmiedt Sattolo

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

Piracicaba
2016

Thales Meinl Schmiedt Sattolo
Engenheiro Agrônomo

Adubação nitrogenada em cana-de-açúcar: efeitos na fertilidade do solo, transformações microbianas e estoques de carbono e nitrogênio

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
2016

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

Sattolo, Thales Meinl Schmiedt
Adubação nitrogenada em cana-de-açúcar: efeitos na fertilidade do solo, transformações microbianas e estoques de carbono e nitrogênio / Thales Meinl Schmiedt Sattolo. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011 - - Piracicaba, 2016.
117 p. : il.

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

1. *Saccharum* spp. 2. Fertilização 3. Nitrogênio 4. Carbono I. Título

CDD 633.61
S253a

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

DEDICO

Ao meu pai Nivaldo Sattolo e minha mãe Maria Sueli M. S. Sattolo, âmago de amor e orgulho indescritível.

OFEREÇO

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP:

“...ao cantarmos as nossas conquistas,
numa vida de intenso labor,
outra coisa não temos em vista,
que pagar-te um tributo de amor...”

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre me rege, me guarda, me governa e me ilumina.

A meu pai Nivaldo Sattolo e minha mãe Maria Sueli M. S. Sattolo, pelo amor incondicional, educação exemplar e apoio irrestrito.

A minha irmã Natalia M. S. Sattolo, pelo carinho, compreensão e exemplo de caráter no qual me espelhei.

A minha amada Tatiane S. Andrade, pelo companheirismo e incentivo vibrante.

Aos Amigos e demais familiares, pelo apreço, preocupação e consideração dos meus esforços.

A República Covil, pela imprescindível participação na minha formação profissional, lições de vida e distinta fraternidade.

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), pela honra inestimável de ser seu “Filho” e por todas as oportunidades a mim concedidas.

Ao Departamento de Ciência do Solo (LSO) e a todos os professores, técnicos e funcionários vinculados, cuja infraestrutura e suporte foram indispensáveis para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Grupo de Apoio a Pesquisa e Extensão (GAPE) e todos os seus membros ex-membros, por auxiliarem na condução dos trabalhos de campo e por cederem uma notável estrutura.

Ao Prof. Dr. Godofredo César Vitti, cuja admirável determinação e contagiante paixão pelo seu trabalho motiva a todos que o conhecem.

Ao Prof. Dr. Rafael Otto, pela cordialidade, ensinamentos e disponibilidade durante mais de dois anos de orientação inspiradora.

Aos colegas de Pós-Graduação: Greice Leal Pereira, Acácio B. de Mira, Sarah Tenelli, Camilo Ernesto Bohorquez, Lílian Angélica Moreira, Rafaela A.

Migliavacca e Saulo A. Q. de Castro, pelos aprendizados, companheirismo e momentos de descontração.

A todos os colegas vinculados ao Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ/USP que tive a oportunidade de conhecer.

Ao Dr. Eduardo Mariano e Beatriz Nastaro Boschiero, pelas valiosas retribuições e fundamentais contribuições para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos estagiários de Graduação: Arthur Deperon Gallucci, Filipe Traldi Barnabé, Giovane Moreno, Mariane Natera, Mariane Moro Barreto Leite, Luis Felipe Rinaldi, pela colaboração com os trabalhos realizados em laboratório.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de Mestrado (Processo nº 2014/02604-3).

Ao Centro Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de Mestrado entre agosto de 2013 e maio de 2014.

A Usina São José da Estiva – Açúcar e Álcool, parceira por mais de cinco anos, pela disposição em contribuir na condução e progresso dos experimentos de campo.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADO!

“NÃO CHORES. **TRABALHA SEMPRE**.

NÃO CONDENES. **ABENÇOA**.

NÃO TE REVOLTES. **PERDOA**.

CULTIVA O AMOR FRATERNAL.

NÃO TE DETENHAS. **PROSSEGUE**.

NÃO RECLAMES. **CONFIA**.

BUSCA A CELESTE ALEGRIA.

DOANDO O BEM PELO MAL.

NÃO TE LASTIMES. ESPERA.

NÃO COMBATAS. COLABORA.

SERVE E SERVE, HORA POR HORA

NO IDEAL QUE TE CONDUZ.

E ENCONTRAREMOS MAIS CEDO,

NO AMOR UNIDO À VERDADE,

A LUZ DA FELICIDADE

EM NOSSO ESQUEMA DE LUZ”

MARIA DOLORES (1901 – 1958)

SUMÁRIO

RESUMO....13
ABSTRACT....15
1 INTRODUÇÃO....17
Referências....23
2 ADAPTAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS COLORIMÉTRICOS NA DETERMINAÇÃO DE AMÔNIO E NITRATO EM SOLOS TROPICAIS....29
Resumo....29
Abstract....29
2.1 Introdução....30
2.2 Material e Métodos....34
2.2.1 Experimento 1....34
2.2.2 Experimento 2....35
2.2.3 Experimento 3....36
2.2.3.1 Preparo das soluções padrão....36
2.2.3.2 Extração (N mineral endógeno)....37
2.2.3.3 Adição de N mineral exógeno....37
2.2.3.4 Determinação pelo método de destilação à vapor....37
2.2.3.5 Determinação pelo método colorimétrico....38
2.2.3.6 Cálculos....40
2.2.3.7 Validação da adaptação do método colorimétrico....40
2.3 Resultados e Discussão....43
2.4 Conclusões....50
Referências....50
3 EFEITOS DA FERTILIZAÇÃO NITROGENADA CONSECUTIVA NOS ATRIBUTOS QUÍMICOS E MICROBIOLOGICOS DE SOLOS CULTIVADOS COM CANA-DE-AÇÚCAR....55
Resumo....55
Abstract....55
3.1 Introdução....56
3.2 Material e Métodos....58
3.2.1 Experimentação de campo....58
3.2.1.1 Caracterização das áreas experimentais....**Erro! Indicador não definido.**

3.2.1.2 Histórico das áreas 61
3.2.1.3 Tratamentos e delineamento experimental 62
3.2.1.4 Aplicação dos tratamentos 62
3.2.1.5 Amostragem do solo 63
3.2.2 Análises laboratoriais 65
3.2.2.1 Carbono orgânico 65
3.2.2.2 Nitrogênio total 66
3.2.2.3 Nitrogênio mineral 67
3.2.2.5 Avaliação temporal na disponibilidade de nitrogênio mineral do solo 67
3.2.2.6 Atividade microbiana 68
3.2.2.7 Carbono da biomassa microbiana 70
3.2.2.8 Nitrogênio da biomassa microbiana 71
3.2.2.9 Coeficiente metabólico 71
3.2.2.10 Fração do carbono da biomassa microbiana no carbono orgânico 72
3.2.2.11 Fração do nitrogênio da biomassa microbiana no nitrogênio total 72
3.2.2.12 Análise estatística 72
3.3 Resultados e Discussão 72
3.3.1 Atributos microbiológicos 72
3.3.2 Avaliação temporal na disponibilidade de nitrogênio mineral do solo 75
3.3.3 Estoques de C orgânico, N total e N mineral 77
3.3.4. Considerações Gerais 80
3.4 Conclusões 80
Referências 81
4 IMPACTOS DA FERTILIZAÇÃO NITROGENADA CONSECUTIVA NA FERTILIDADE DE SOLOS CULTIVADOS COM CANA-DE-AÇÚCAR 89
Resumo 89
Abstract 89
4.1 Introdução 90
4.2 Material e Métodos 93
4.2.1 Experimentação de campo 93
4.2.1.1 Caracterização das áreas experimentais 93
4.2.1.2 Histórico das áreas 96
4.2.1.3 Tratamentos e delineamento experimental 97
4.2.1.4 Aplicação dos tratamentos 97

4.2.1.5 Amostragem do solo.....99
4.2.2 Análises laboratoriais 99
4.2.2.1 Atributos químicos da fertilidade do solo 99
4.2.2.2 Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT) 100
4.2.2.3 Análise estatística 100
4.3 Resultados e Discussão.....101
4.3.1 Efeito das doses de N 101
4.3.2 Efeito das fontes de N 103
4.3.4 Variação da fração hidrolisável do N orgânico do solo.....111
4.4 Conclusões.....112
Referências 113

RESUMO

Adubação nitrogenada em cana-de-açúcar: efeitos na fertilidade do solo, transformações microbianas e estoques de carbono e nitrogênio

Os fertilizantes nitrogenados desempenham função importante na nutrição e aumento da produtividade da cana-de-açúcar, porém alteram os processos de transformação de C e N do solo. Este trabalho teve por objetivo principal avaliar o efeito da aplicação consecutiva de fertilizantes minerais e orgânicos nas transformações microbianas, na mineralização do N, nos estoques de C, N total e N mineral, e na fertilidade do solo a médio prazo. Foram escolhidas duas áreas cultivadas com cana-de-açúcar no Estado de São Paulo nas quais experimentos com manejo da adubação nitrogenada foram conduzidos desde 2010 e 2011, com reaplicação anual dos tratamentos até 2014. Nestas áreas foi adotado o delineamento estatístico casualizado em blocos com quatro repetições. Os tratamentos foram: controle (sem adubação nitrogenada), adubação com as fontes nitrato de amônio, ureia, composto orgânico e Ajifer® na dose 100 kg ha^{-1} ano^{-1} N, e adubação com a fonte YaraBella Nitromag™ nas doses de 50, 100, 150 e 200 kg ha^{-1} ano^{-1} N. Para avaliar o efeito dos tratamentos na variação da fertilidade do solo e no teor de N orgânico hidrolisável (N-ISNT), foram realizadas amostragens de solo anuais nestes experimentos nas camadas de 0-20 e 20-40 cm. Para avaliar o efeito dos tratamentos nos processos de transformação do C e N do solo, em 2014 foram coletadas amostras de solo até 100 cm de profundidade nos tratamentos controle, composto orgânico, YaraBella Nitromag™ nas doses 100 e 200 kg ha^{-1} ano^{-1} N e mata nativa, nas quais foram determinados a densidade do solo e teores de C orgânico, N total e N mineral ($N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ + $N\text{-}NO_2^-$). Adicionalmente, amostras da camada de 0-20 cm foram incubadas em laboratório para avaliar a disponibilidade temporal de N e os teores de C e N da biomassa microbiana e sua atividade. Os efeitos da adubação nitrogenada consecutiva foram pouco expressivos nas transformações microbianas, na disponibilidade temporal de N mineral e nos estoques de C e N do solo; entretanto, foi observado acúmulo de N mineral em camadas mais profundas (> 40 cm) para a dose de 200 kg ha^{-1} ano^{-1} N. Além disso, a área de mata apresentou melhores atributos microbiológicos e maior estoque de C e N comparado às áreas cultivadas com cana-de-açúcar. Em relação à variação da fertilidade do solo, observou-se que o aumento das doses de N potencializa a acidificação do solo em anos consecutivos, assim como promove diminuição do teor de bases trocáveis. A manutenção da fertilidade do solo, dos atributos microbiológicos, e dos estoques de C, N total e N mineral para produção sustentável de biocombustíveis depende do manejo adequado da fertilização nitrogenada no sistema de colheita dos canaviais sem prévia queima. De forma complementar e paralela a estes trabalhos, foi objeto de estudo a adaptação e validação de métodos colorimétricos na determinação de N inorgânico em extratos de solos tropicais. Os resultados revelaram que é necessário adicionar carvão ativado durante o processo de extração para que os métodos colorimétricos apresentem melhor exatidão e precisão. Recomenda-se utilizar solução extratora de KCl 2,0 mol L^{-1} e permitir tempo de reação de 30 min. A faixa linear de trabalho mais adequada varia de 0 a 7,5 e 0 a 10,0 mg L^{-1} de N para leituras de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ respectivamente.

Palavras-chave: Adubação nitrogenada consecutiva; Fertilizante orgânico; Mata nativa; Nitrogênio mineral; Illinois Soil Nitrogen Test – ISNT

ABSTRACT

Nitrogen fertilization in sugarcane: effects on soil fertility, microbial transformations and stocks of carbon and nitrogen

Nitrogen fertilizers play an important role in nutrition and increased productivity of sugarcane, however, affect cycling of C and N in the soil. This study mainly aimed to evaluate the effect of the consecutive application of organic and inorganic sources of N in microbial soil transformations, in N mineralization, in C, total N and mineral N stocks, and soil fertility in the medium term. They were chosen two areas cultivated with sugarcane in the State of São Paulo in which experiments with management of nitrogen fertilization have been conducted since 2010 and 2011, with annual reapplication of treatments through 2014. In these areas was adopted the randomized blocks experimental design, with four replications. The treatments were: control (no nitrogen fertilization), fertilization with sources of ammonium nitrate, urea, organic fertilizer and Ajifer® at rate of 100 kg ha^{-1} yr^{-1} N, and fertilization with YaraBella Nitromag™ source at rates of 50, 100, 150 and 200 kg ha^{-1} yr^{-1} N. To evaluate the effect of treatments on the variation of soil fertility and hydrolysable organic-N fraction (N-ISNT), annual soil samples were collected in these experiments at 0-0.2 and 0.2-0.40 m. To evaluate the effect of treatments on soil C and N transformations, soil samples were collected up to 1.0 m depth in the control, organic fertilizers, YaraBella Nitromag™ at rates of 100 and 200 kg ha^{-1} yr^{-1} N treatments and bushland, in which were determined bulk density and organic C, total N and mineral N (NH_4^+-N and NO_2^--N + NO_3^--N). In addition, soil samples of the 0-0.2 m were incubated in the laboratory to assess the availability of N and the content of C and N microbial biomass and microbial activity. The effects of consecutive nitrogen fertilizer were inexpressive in microbial transformations, in the temporal availability of mineral N and C and N soil stocks; however, it was observed mineral N accumulation in deeper layers (> 0.4 m) at rate of 200 kg ha^{-1} yr^{-1} N. Moreover, the bushland showed better microbiological attributes and largest C and N soil stocks compared with areas cultivated with sugarcane. In relation to the variation of soil fertility, it observed that the increase in N rates enhances the soil acidification in consecutive years, and promotes decreased levels of exchangeable bases. The maintenance of soil fertility, the microbiological attributes, and the C, total N and mineral N soil stocks for sustainable biofuel production depends on proper management of nitrogen fertilization on crop system of without burning sugarcane fields. Complementarily and in parallel with these studies, it was the object of study the adaptation and validation of colorimetric methods for the determination of inorganic N in tropical soil extracts. The results revealed that it is necessary to add activated charcoal during the extraction process so that colorimetric methods exhibit better accuracy and precision. It is recommended to use extraction solution of KCl 2,0 mol L^{-1} and allow 30 min reaction time between addition of reagent and the spectrophotometer reading. The linear working range more suitable varies from 0 to 7.5 and 0 to 10,0 mg L^{-1} of N for measurement of NH_4^+-N and NO_3^--N respectively.

Keywords: Consecutive nitrogen fertilization; Organic fertilizer; Bushland; Mineral nitrogen; Illinois Soil Nitrogen Test - ISNT

1 INTRODUÇÃO

Dentre as culturas produzidas no Brasil, a cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) ocupa hoje a terceira posição em relação à área plantada, com cerca de 10,7 milhões de ha, inferior à área cultivada com soja (32,1 milhões de ha) e com milho (15,9 milhões de ha) (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2016). A região sudeste é a região com maior área plantada da cultura, representando 61,7% do total, sendo o Estado de São Paulo o mais significativo em relação não só a área plantada, mas também em relação à produção (IBGE, 2016).

A área cultivada com cana-de-açúcar encontra-se em expansão no Brasil. A expansão da cultura está ocorrendo nas regiões oeste e noroeste de São Paulo, nos Estados de Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, e como novas fronteiras, o Vale do São Francisco e o oeste da Bahia, Maranhão e o Piauí (GOES; MARRA, 2008). No entanto, o zoneamento agroecológico da cana-de-açúcar proíbe a expansão de canaviais e a implantação de novas usinas de etanol ou açúcar na Amazônia, no Pantanal e na bacia Alto Paraguai, além de estabelecer que a cultura não possa se expandir em áreas de vegetação primaria ou em terrenos com declividade acima de 12%, com a premissa da colheita sem queima nas áreas em expansão (EMBRAPA, 2009). Mesmo com estas limitações, o zoneamento agroecológico demonstra que o Brasil dispõe de cerca de 64 milhões de ha de áreas aptas ao cultivo da cultura (EMBRAPA, 2009).

A cana-de-açúcar tem por característica ser uma cultura com um grau restrito de tecnologia aplicada ao sistema produtivo, como por exemplo, uso limitado de corretivos e fertilizantes, controle biológico de pragas, controle químico de doenças, pragas e plantas daninhas, controle de compactação do solo como o uso de pneus de alta flutuação, utilização de variedades melhoradas, uso de maturadores, dentre outros (DALRI; CRUZ, 2008). Deste modo observa-se que mesmo com o uso desta tecnologia nos canaviais, a produtividade média da cultura encontra-se muito abaixo do seu potencial produtivo. A produtividade média no Brasil atingiu 80 t ha^{-1} no ano de 2008 e decresceu para 72 t ha^{-1} no ano de 2015 (IBGE, 2016), provavelmente devido à expansão da cultura para áreas de baixa e média fertilidade, ao impacto causado pela intensificação da mecanização na produtividade e restrições orçamentárias que limitaram o investimento na renovação e manutenção dos canaviais.

Para elevar a produtividade, a adubação é uma das principais práticas adotadas pelos produtores não apenas na cana-de-açúcar, mas também em todas as culturas. Os custos com correção e adubação podem representar 45% dos custos de produção em culturas como o milho (COELHO; ALVES, 2003), enquanto que para a cana-de-açúcar os gastos com adubação correspondem a 20% do custo de produção (MAEDA, 2009). Na implantação dos canaviais, os maiores custos referem-se às práticas corretivas (calagem, gessagem e fosfatagem) e à adubação mineral de plantio, principalmente com fósforo e potássio. No ciclo de soqueira, que representa cerca de 80 a 85% da área cultivada com cana-de-açúcar, o potássio e o nitrogênio são os nutrientes mais exigidos e que apresentam os maiores custos para sua reposição. Segundo Orlando Filho et al. (1980), o K é extraído em maior quantidade do que o N pela cana-de-açúcar, sendo necessários 174 kg de K_2O e 143 kg de N para produção de 100 toneladas de colmos, corroborando com os valores encontrados por Trivelin et al. (2002) em relação ao N.

Em agrossistemas, em geral, o fertilizante nitrogenado é o principal veículo de adição de N e um dos insumos de maior importância pelo desempenho crescente na produtividade e pelo atendimento da demanda de alimentos (YAMADA et al., 2007). No Brasil, a prática da fertilização nitrogenada tem recebido especial atenção na cultura da cana-de-açúcar (ORLANDO FILHO, 1983; CARNAÚBA, 1990; DEMATTÊ, 2005). Assim, em uma conjuntura de elevada expectativa e cobranças no que diz respeito à sustentabilidade, o aumento da produtividade dos canaviais pela utilização de fertilizantes nitrogenados pode influenciar positivamente a geração de combustíveis provenientes de fonte renovável (NAIK et al., 2010), a mitigação de gases de efeito estufa (MACEDO et al., 2008) e a venda de crédito de carbono (NGUYEN et al., 2010).

Entretanto, o papel dos fertilizantes nitrogenados no aumento da produtividade da cana-de-açúcar ainda é uma questão controversa. Embora exista um número considerável de bactérias em associação à cana-de-açúcar com capacidade de fixar N_2 atmosférico (URQUIAGA et al., 1992), não há evidências, em condições de campo, de que esta fixação biológica de N seja significativa e suficiente para obtenções das atuais produtividades (THORBURN et al., 2003). Por outro lado, a contribuição dos fertilizantes nitrogenados em relação ao N total absorvido (cana planta e soqueiras) geralmente é menor que 40% do N aplicado (GAVA et al., 2003; FRANCO et al. 2008; FRANCO et al., 2011).

Também associado ao baixo aproveitamento do N aplicado como fertilizante na cana-de-açúcar está o uso de fontes como a ureia. A aplicação de ureia na superfície do solo pode resultar em perdas de N por volatilização de $N\text{-}NH_3$ da ordem de 20 a 40% no sistema de cultivo atualmente adotado, no qual há baixa mobilização do solo e grande acúmulo de palhada proveniente da colheita mecanizada sem queima prévia (CANTARELLA et al., 1999; VITTI, 2007; CANTARELLA et al., 2007). Outros fertilizantes nitrogenados têm sido avaliados como opções de substituição à ureia para adubação da cana-de-açúcar sob colheita sem prévia queima. Dentre eles destacam-se fontes convencionais como nitrato de amônio e sulfato de amônio, tal qual outras fontes como nitrato de amônio com cálcio e magnésio dolomítico, cloreto de amônio e fertilizantes organominerais líquidos COSTA et al., 2003; VIEIRA-MEGDA et al., 2015; MARIANO et al., 2015).

Os subprodutos derivados do processamento da cana-de-açúcar e dos processos de obtenção do álcool, como a torta de filtro e a vinhaça respectivamente, são importantes fontes de nutrientes para a cultura sendo amplamente utilizadas, e de forma cada vez mais racional. Fato este que pode ser comprovado pela substituição parcial da adubação mineral da cana-de-açúcar pela adubação organomineral por meio da aplicação de compostos orgânicos nas lavouras. Os compostos orgânicos são resultado da compostagem dos subprodutos derivados da indústria canavieira, como a torta de filtro e cinzas de caldeira, adicionados de outros subprodutos, como cama de frango, palhadas e restos de culturas, dejetos de animais, gesso agrícola e fosfatos.

Estes subprodutos estão sendo cada vez mais utilizados pelo setor sucroenergético, com potencial em aumentar os teores de nutrientes do solo, o estoque de C orgânico e por fim o aumento da produtividade. Devido aos altos teores de matéria orgânica, o uso de resíduos orgânicos garantirá o retorno ao solo da matéria orgânica que gradualmente é consumida e mineralizada (GOMES, 2011), fornecendo nutrientes ao sistema solo-planta e contribuindo para a manutenção da fertilidade do solo.

A matéria orgânica exerce papel de destaque na fertilidade química, física e biológica do solo, principalmente tratando-se de solos tropicais (BAYER; BERTOL, 1999; ANDREOLA et al., 2000; MOREIRA; COSTA, 2004; ARAUJO et al., 2007). Também é responsável por aumentos significativos na produção agrícola, além da proteção contra contaminação e degradação do solo (HERNANI et al., 1999).

Segundo Bayer e Mielniczuk (2008) a matéria orgânica atua como constituinte sólido do solo que pode ser alterado pela ação do manejo numa escala de tempo compatível com a das gerações humanas, sendo reconhecida como promotora da qualidade do solo. Além de fazer com que o solo exerça suas funções na natureza, a matéria orgânica também é capaz de estocar C e N (CANELLAS et al., 2007; BRANDANI, 2013), sendo esse um atributo muito estudado recentemente devido à preocupação com a intensidade de uso do solo e manejo adotado nos agrossistemas.

A transição de áreas cobertas com vegetação nativa e que passam a ser manejadas como agrossistemas causa redução no estoque de C e N do solo (BARBOSA, 2010; BARROS et al., 2013). Entretanto, quando comparado os estoques de C e N de um canavial sob colheita com queima e sem queima prévia, esses estoques são maiores no sistema sem queima (PINHEIRO et al., 2007). Segundo Signor (2010), estoques de C na camada de 0-30 cm representaram 60 e 53% do total acumulado na camada de 0 a 100 cm para áreas de cana-de-açúcar sem queima e com queima da palhada, respectivamente, enquanto para N a variação é de 55 e 50%, na mesma ordem. Brandani (2013) também observaram efeitos favoráveis no estoque de C no solo em áreas sob colheita de cana-de-açúcar sem prévia queima. Além desse aumento em quantidade, o cultivo de cana-de-açúcar neste sistema também promove mudanças significativas no processo de humificação da matéria orgânica do solo à longo prazo e, portanto, proporciona melhorias na sua qualidade (CANELLAS et al., 2007).

Ao estudar os estoques de C e N em áreas de cana-de-açúcar, Signor (2010) concluiu que o tempo de adoção do sistema sem queima prévia favoreceu o conteúdo de C microbiano no solo. Em solos com matéria orgânica de elevada relação C/N, a biomassa microbiana está sob condições de estresse, tornando-se incapaz de utilizar totalmente o N e o C orgânico. O aparente não empobrecimento em N no solo e a manutenção da produção da cana-de-açúcar sugerem que a cultura pode obter o N a partir de outros meios, como a fixação biológica de N e a deposição atmosférica, ou o próprio solo fornecer o N por outros processos (DEMATTÊ, 2005), com destaque para a mineralização da matéria orgânica do solo (recompensada pela ciclagem de nutrientes)

Estudos recentes têm apresentado baixa resposta da cana-de-açúcar à adubação nitrogenada (OTTO et al., 2013; MARIANO, 2015), especialmente em

áreas manejadas em rotação com leguminosas ou com utilização de resíduos orgânicos como vinhaça e torta de filtro. Em uma das áreas avaliadas por Otto et al. (2013), com histórico de aplicação de vinhaça, não houve resposta da cana-de-açúcar à adubação nitrogenada de soqueira em três anos consecutivos, indicando que possivelmente a mineralização da matéria orgânica do solo está suprindo a demanda de N pela cultura. Em uma situação como essa, é interessante avaliar se ocorre diminuição no estoque de C e N do solo nas parcelas controle com o passar dos anos, uma vez que o N exportado pelos colmos não está sendo reposto pela adubação.

A decomposição e a mineralização dos resíduos vegetais dependem da atividade microbiana, sendo importante conhecer a sua dinâmica para entender a ciclagem de nutrientes. Apesar da grande reserva de N orgânico no solo, apenas uma fração do N é mineralizável, ocorrendo predominantemente nas frações menos representativas em termos de quantidade de matéria orgânica do solo, como biomassa microbiana e a fração lábil ou ativa, que representam 5% e 6% do N mineralizável no solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Dessa forma, é fundamental entender o efeito da adubação nitrogenada consecutiva nos processos de transformação do N do solo, incluindo o efeito na biomassa microbiana e nos estoques de C e N a médio e longo prazo.

A adição de material orgânico com baixa relação C/N aumenta a taxa de degradação do C e N do solo, uma vez que proporciona estimulo imediato da atividade metabólica na biomassa microbiana pelo aparecimento de compostos facilmente decomponíveis e solúveis em água, como aminoaçúcares e aminoácidos. Como consequência, ocorre rápido crescimento da biomassa microbiana após a adição destes compostos. Entretanto, à longo prazo a adição de fertilizantes orgânicos normalmente aumenta o estoque de C e N do solo (LADHA et al., 2011; LIU et al., 2013), enquanto que para os fertilizantes minerais ainda existem dúvidas se o efeito destes é favorável ou desfavorável (KHAN et al., 2007; MULVANEY et al., 2009; OLSON, 2013; STOCKMAN et al., 2013).

A mineralização do N do solo ou dos resíduos orgânicos é definida como a transformação do N de formas orgânicas em formas inorgânicas, como NH_4^+ e NO_3^-, sendo realizado por organismos heterotróficos do solo (BAYER; MIELNICZUK, 2008). Os compostos facilmente decomponíveis são a fração lábil dos resíduos orgânicos. São constituintes da parede celular dos microrganismos do solo ou

produto da hidrólise de macromoléculas, como proteínas, aminoácidos e ácidos nucléicos, as quais sofrem ação enzimática, tendo como resultado a liberação de amônia. Assim, geralmente estão associados a ausência de resposta das culturas à adubação nitrogenada. Segundo Mulvaney et al. (2001), para o uso eficiente dos fertilizantes, a mineralização do N do solo deve ser considerada nos programas de recomendação da adubação nitrogenada.

Outro aspecto que merece destaque é a contribuição da palha no fornecimento de N para a cultura. Yamaguchi (2013), ao estudar a mineralização de C e N na palhada de cana-de-açúcar, concluiu que o N inicialmente fica imobilizado na palhada, porém, ao final do ciclo ele começa a ser disponibilizado em função da redução da relação C/N, corroborando com os resultados obtidos por Gava et al. (2003) e Fortes et al. (2012). Após cinco anos, a palhada do primeiro corte estará praticamente mineralizada e grande parte do N constituirá a matéria orgânica, que será usada nos ciclos seguintes (DEMATTÊ, 2005).

Os trabalhos nesta área têm demonstrado que o N da palhada, devido à elevada relação C/N, terão pouca influência na nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar a curto prazo. Em um primeiro momento, o N da palhada sofrerá mineralização, passando a fazer parte do estoque de matéria orgânica do solo (CANTARELLA et al., 2007). Com o passar do tempo, este N passará a formas mais lábeis da matéria orgânica podendo sofrer mineralização e ficar disponível para a cana-de-açúcar, constituindo importante fonte de N para a cultura a médio e longo prazo (VITTI, 2003; TRIVELIN et al., 2013). Ou seja, assim como o C, espera-se aumento dos estoques de N orgânico do solo em áreas sob colheita de cana-de-açúcar sem prévia queima.

Diante do exposto acima formulou-se as seguintes hipóteses: 1) a fertilização nitrogenada orgânica aumenta os estoques de C e N e favorece os atributos microbiológicos do solo em áreas cultivadas com cana-de-açúcar, enquanto a fertilização nitrogenada mineral promove mineralização do C e N do solo e aumenta a disponibilidade de N mineral, principalmente nas maiores doses; 2) a manutenção da palhada na superfície do solo promove aumento nos teores de K no solo a médio prazo, e de que o aumento da fertilização nitrogenada consecutiva em solos cultivados com soqueiras de cana-de-açúcar promove intensa acidificação do solo e consequente diminuição de bases trocáveis, principalmente quando submetidos a elevadas doses.

Com base nas hipóteses descritas acima, os objetivos deste estudo foram: 1) avaliar os estoques de C orgânico, N total e N mineral no solo, assim como o C e N da biomassa microbiana e a mineralização do N do solo relacionadas às fontes orgânicas e minerais de N aplicadas sobre a palha consecutivamente há mais de dois três em dois solos cultivados com cana-de-açúcar no Estado de São Paulo; 2) avaliar a variação da fertilidade do solo relacionadas à diferentes fontes e doses de N aplicadas sobre a palha consecutivamente há mais de três anos em dois solos cultivados com cana-de-açúcar colhida sem queima prévia no Estado de São Paulo.

O capítulo 2 desta dissertação de mestrado, intitulado “Adaptação e validação de métodos colorimétricos na determinação de amônio e nitrato em solos tropicais”, não compartilha suas hipóteses e objetivos com aquelas descritas acima, pois constitui um trabalho desenvolvido de forma complementar e paralela ao capítulo 3.

Esta dissertação foi elaborada na forma de três capítulos independentes, que serão publicados conforme a estrutura abaixo:

- SATTOLO, T.M.S.; OTTO, R.; MARIANO, E.; KAMOGAWA, M.Y. Adaptation and validation of colorimetric methods in determining ammonium and nitrate on tropical soils.
- SATTOLO, T.M.S.; OTTO, R.; MARIANO, E.; BOSCHIERO, B.N.; TRIVELIN, P.C.O. Effects of consecutive nitrogen fertilization in chemicals and microbiological attributes of sugarcane cropped soils.
- SATTOLO, T.M.S.; OTTO, R.; MARIANO, E.; BOSCHIERO, B.N.; TRIVELIN, P.C.O. Impacts of consecutive nitrogen fertilization in fertility of soils cultivated with sugarcane.

Referências

ANDREOLA, F.; COSTA, L.M.; OLSZEVSKI, N. Influência da cobertura vegetal de inverno e da adubação orgânica e, ou, mineral sobre as propriedades físicas de uma terra roxa estruturada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 857-865, 2000.

ARAUJO, R.; GOEDERT, W.J.; LACERDA, M.P.C. Qualidade de um solo sob diferentes usos e sob cerrado nativo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 1099-1108, 2007.

BARBOSA, L.de A. **Impacto de sistemas de cultivo orgânico e convencional da cana-de-açúcar nos atributos do solo**. 2010. 80 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

BARROS, J.D.S.; CHAVES, L.H.G.; CHAVES, I.B.; FARIAS, C.H.A.; PEREIRA, W.E. Estoque de carbono e nitrogênio em sistemas de manejo do solo nos tabuleiros costeiros paraibanos. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 26, p. 35-42, 2013.

BAYER, C.; BERTOL, I. Características químicas de um Cambissolo húmico afetadas por sistemas de preparo, com ênfase à matéria orgânica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, p. 687-694, 1999.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: SANTOS, G.A.; SILVA, L.S.; CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F.A.O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo:** ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre: Metrópole, 2008. cap. 2, p. 7-18.

BRANDANI, C.B. **Capacidade máxima de acúmulo de carbono em solos cultivados com cana-de-açúcar**. 2013. 132 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

CANELLAS, L.P.; BALDOTTO, M.A.; BUSATO, J.G.; MARCIANO, C.R.; MENEZES, S.C.; SLIVA, N.M.D.; RUMJANEK, V.M.; VELLOSO, A.C.X.; SIMÕES, M.L.; MARTIN-NETO, L. Estoque e qualidade da matéria orgânica de um solo cultivado com cana-de-açúcar por longo tempo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 331-340, 2007.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C. Nitrogênio e enxofre na cultura da cana-de-açúcar. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S. e; VITTI, G.C. **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira**. Piracicaba: IPNI, 2007. cap. 11, p. 355-392.

CANTARELLA, H.; ROSSETO, R.; BARBOSA, W.; PENNA, M.J.; RESENDE, L.C.L. Perdas de nitrogênio por volatilização da amônia e resposta da cana-de-açúcar à adubação nitrogenada, em sistema de colheita de cana sem queima prévia. CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 7, Londrina, 1999. **Anais.** Piracicaba: STAB, 1999. p. 82-87.

CARNAÚBA, B.A.A. O nitrogênio e a cana-de-açúcar. **STAB. Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 8, p. 24-39, 1990.

COELHO, A.M.; ALVES, V.M.C. Adubação fosfatada na cultura do milho. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S. **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba: Potafós, 2004. cap. 9, p. 243-274.

COSTA, M.C.G.; VITTI, G.C.; CANTARELLA, H. Volatilização de N-NH_3 de fontes nitrogenadas em cana-de-açúcar colhida sem despalha a fogo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 631-637, 2003.

DALRI, A.; CRUZ, R.L. Produtividade da cana-de-açúcar fertirrigada com N e K via gotejamento subsuperficial. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 28, p. 516-524, 2008.

DEMATTÊ, J.L.I. Cultura da cana-de-açúcar: recuperação e manutenção da fertilidade dos solos. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 111, p. 1-24, set. 2005.

EMBRAPA. **Zoneamento agroecológico da cana-de-açúcar:** expandir a produção, preservar a vida, garantir o futuro. Rio de Janeiro, 2009. 55 p. (Comunicação Nacional).

FORTES, C.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C. Long term decomposition of sugarcane harvest residues in Sao Paulo State Brazil. **Biomass Bioenergy**, Amsterdam, v. 42, p. 189-198, 2012.

FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C.; OTTO, R. Aproveitamento pela cana-de-açúcar da adubação nitrogenada de plantio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 2763-2770, 2008.

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

GAVA, G.J.C.; TRIVELIN, P.C.O. VITTI, A.C. OLIVEIRA, M.W. Recuperação do nitrogênio (^{15}N) da ureia e da palhada por soqueira de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum spp.*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 621-630, 2003.

GOES, T.; MARRA, R. **A expansão da cana-de-açúcar e sua sustentabilidade.** Disponível em: <http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2008/A%20expansao%20da%20cana-de-acucar%20e%20a%20sua%20sustentabilidade.pdf/view>. Acesso em: 27 ago. 2013.

GOMES, T.C.A. **Resíduos orgânicos no processo de compostagem e sua influência sobre a matéria orgânica do solo em cultivo de cana-de-açúcar**. 2011. 118 p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2011.

HERNANI, I.C.; KURIHARA, C.H.; SILVA, W.M. Sistemas de manejo de solo e perdas de nutrientes e matéria orgânica por erosão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, p. 145-154, 1999.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola.** Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201511.pdf>. Acesso em: 18 de janeiro de 2016.

KHAN, S.A.; MULVANEY, R.L.; ELLSWORTH, T.R.; BOAST, C.W. The myth of nitrogen fertilization for soil carbon sequestration. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 36, p. 1821-1832, 2007.

LADHA, J.K.; REDDY, C.K.; PADRE, A.T.; KESSEL, C. van. Role of nitrogen fertilization in sustaining organic matter in cultivated soils. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 40, p. 1756-1766, 2011.

LIU, E.; YAN, C.; MEI, X.; ZHANG, Y.; FAN, T. Long-term effect of manure and fertilizer on soil organic carbon pools in dryland farming in northwest China. **PLoS One**, Cambridge, v. 8, n. 2, 2013. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0056536>. Acesso em: 20 fev. 2014.

MACEDO, I.C.; SEABRA, J.E.A.; SILVA, J.E.A.R. Green house gases emissions in the production and use of ethanol from sugarcane in Brazil: the 2005/2006 averages and a prediction for 2020. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v. 32, p. 582-595, 2008.

MAEDA, A.S. **Adubação nitrogenada e potássica em socas de cana-de-açúcar com e sem queima em solos de cerrado.** 2009. 113 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Engenharia de Ilha solteira. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2009.

MARIANO, E.; LEITE, J.M.; MEGDA, M.X.V.; TORRES-DORANTE, L.; TRIVELIN, P.C.O. Influence of nitrogen form supply on soil mineral nitrogen dynamics, nitrogen uptake, and productivity of sugarcane. **Agronomy Journal**, Madison, v. 107, p. 641-650, 2015.

MOREIRA, A.; COSTA, D.G. Dinâmica da matéria orgânica na recuperação de clareiras da floresta amazônica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 1013-1019, 2004.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A.; ELLSWORTH, T.R. Synthetic nitrogen fertilizers deplete soil nitrogen: a global dilemma for sustainable cereal production. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 38, p. 2295-2314, 2009.

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

NAIK, S.N.; GOUD, V.V.; ROUT, P.K.; DALAI, A.K. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Amsterdam, v. 14, p. 578-597, 2010.

NGUYEN, T.L.T.; GHEEWALA, S.H.; SAGISAKA, M. Greenhouse gas savings potential of sugar cane bio-energy systems. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 18, p. 412-418, 2010.

OLSON, K.R. Soil organic carbon sequestration, storage, retention and loss in US croplands: Issues paper for protocol development. **Geoderma**, Amsteram, v. 195, p. 201-206, 2013.

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

ORLANDO FILHO, J.; HAAG, H.P.; ZAMBELLO JÚNIOR, E. Crescimento e absorção de macronutrientes pela cana-de-açúcar variedade CB41-76, em função da idade, em solos do Estado de São Paulo. **Boletim Técnico Planalsucar,** Piracicaba, v. 2, n. 1, p. 1-128, 1980.

OTTO, R.; MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A.; TRIVELIN, P.C.O. Quantifying soil nitrogen mineralization to improve fertilizer nitrogen management of sugarcane. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 49, p. 893–904, 2013.

PINHEIRO, E.F.M.; LIMA, E.; CEDDIA, M.B.; URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. Estoques de carbono e nitrogênio num Argissolo amarelo cultivado com cana-de-açúcar: influência da queima ou manutenção da palhada. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento,** Seropédica, n. 17, p. 1-21, 2007.

SIGNOR, D. **Estoques de carbono e nitrogênio e emissão de gases do efeito estufa em áreas de cana-de-açúcar na região de Piracicaba**. 2010. 119 p. Dissertação (Mestrado Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

STOCKMANN, U.; ADAMS, M.A.; CRAWFORD, J.W. The knowns, known unknowns and unknowns of sequestration of soil organic carbon. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 164, p. 80-99, 2013.

THORNBURN, P.J.; DART, I.K.; BIGGS, T.M.; BAILLIE, C.P.; SMITH, M.A.; KEATING, B.A. The fate of nitrogen applied to sugarcane by trickle irrigation. **Irrigation Science**, New York, v. 22, p. 201-209, 2003.

TRIVELIN, P.C.O.; FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; FERREITA, D.A.; VITTI, A.C.; FORTES, C.; FARONI, C.E.; OLIVEIRA, E.C.A.; CANTARELLA, H. Impact of sugarcane trash on fertilizer requirements for São Paulo, Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, p. 345-352, 2013.

TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, M.W.; GAVA, G.J.C.; SARRIÉS, G.A. Utilização de nitrogênio e produtividade da cana-de-açúcar (cana-planta) em solo arenoso com incorporação de resíduos da cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, p. 636-646, 2002.

URQUIAGA, S.; CRUZ, K.H.S.; BODDEY, R.M. Contribution of nitrogen fixation to sugarcane: nitrogen-15 and nitrogen balance estimates. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 56, p. 105-114, 1992.

VIEIRA-MEGDA, M.X.; MARIANO, E.; LEITE, J.M.; FRANCO, H.C.J.; VITTI, A.C.; MEGDA, M.M.; KHAN, S.A.; MULVANEY, R.L.; TRIVELIN, P.C.O. Contribution of fertilizer nitrogen to the total nitrogen extracted by sugarcane under Brazilian field conditions. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Amsterdam, v. 101, p. 241-257, 2015.

VITTI, A.C. **Adubação nitrogenada da cana-de-açúcar (soqueira) colhida mecanicamente sem a queima prévia: manejo e efeito na produtividade**. 2003. 114 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; FRANCO, H.C.J.; BOLOGNA, I.R. FARONI, C.E. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada à localização de adubos nitrogenados aplicados sobre os resíduos culturais em canavial sem queima. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 491-498, 2007.

YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S.; VITTI, G.C. **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira**. Piracicaba: IPNI, 2007. 722 p.

YAMAGUCHI, C.S.; RAMOS, N.P.; PIRES, A.M.M.; VIEIRA, H.B. HIRANO, R.T.; ROSSETTO, R. Mineralização de C e N na palhada de cana-de-açúcar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 34, 2013, Florianópolis. **Anais.** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2013. 4 p.

2 ADAPTAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS COLORIMÉTRICOS NA DETERMINAÇÃO DE AMÔNIO E NITRATO EM SOLOS TROPICAIS

Resumo

A determinação de nitrogênio mineral ($N\text{-}NH_4^+$, $N\text{-}NO_2^-$ e $N\text{-}NO_3^-$) em extratos de solo é muito utilizada em experimentos que avaliam interação solo-nitrogênio. O principal e mais utilizado método é a destilação à vapor, porém métodos colorimétricos apresentam vantagens por serem mais rápidos e simples, possuírem melhor rendimento e com maior sensibilidade. Entretanto, estão sujeitos a perturbações quando o extrato possui interferentes orgânicos nitrogenados, limitando sua aplicação em extratos de solos tropicais. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o método colorimétrico de determinação de $N\text{-}NH_4^+$ (reação de Berthelot) e $N\text{-}NO_3^-$ + $N\text{-}NO_2^-$ (reação de Griess-Ilosvay) em extratos salinos de solos tropicais por meio da adição de carvão ativado durante o processo de extração. Extratos de solo contendo N mineral endógeno (sem adição de N mineral) e exógeno (com adição de N mineral), com e sem adição de carvão ativado, foram determinados pelos métodos de destilação à vapor e colorimétrico, seguidos de comparação através de parâmetros de validação. Os resultados revelaram que é necessário adicionar carvão ativado durante o processo de extração para que os métodos colorimétricos apresentem melhor exatidão e precisão. Recomenda-se utilizar solução extratora de 2,0 mol L^{-1} de KCl e permitir tempo de reação de 30 min entre a adição dos reagentes e a leitura no espectrofotômetro. Adicionalmente, a faixa linear de trabalho mais adequada varia de 0 a 7,5 e 0 a 10,0 mg L^{-1} de N para leituras de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ respectivamente. Os parâmetros de validação foram confirmados na comparação com o método da destilação à vapor. Portanto, a utilização dos métodos colorimétricos para determinação de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ + $N\text{-}NO_2^-$ em extratos de solos tropicais pode ser utilizado desde que seja adicionado carvão ativado no processo de extração.

Palavras-chave: Calibração; Reação de Berthelot; Reação de Griess-Ilosvay; Carvão ativado; Extratos de solos

Abstract

Inorganic nitrogen (NH_4^+-N, NO_2^--N and NO_3^--N) determination in soil extracts is a useful tool in studying soil-nitrogen interactions. The main worldwide used method is the steam distillation, but colorimetric methods shows advantages of being quick, simple, sensitive and higher yield. However, they are subject to disruption when the extract has interfering organic nitrogen, limiting its application in tropical soils extracts. The aim of this study was to evaluate colorimetric methods for the determination of NH_4^+-N (through Berthelot reaction) and NO_3^--N + NO_2^--N (through Griess-Ilosvay reaction) in salt extracts of tropical soils by addition of activated charcoal during the extraction process. Soil extracts amended or not with inorganic N were used, after addition or not of activated charcoal. Inorganic N was further quantified by steam distillation and colorimetric methods, followed by comparison of validation parameters. The results revealed the need to add activated charcoal in the extraction process to increase the accuracy and precision of the colorimetric

methods. It is recommended to use extraction solution of 2.0 mol^{-1} KCl and reaction time of 30 min between the addition of the reagents and reading in a spectrophotometer. Additionally, the linear working range more suitable vary from 0 to 7.5 and 0 to 10.0 mg L^{-1} of N to NH_4^+ and NO_3^- readings respectively. Validation parameters were confirmed in comparison with the steam distillation method. The colorimetric method can be used to quantify NH_4^+-N and NO_3^--N + NO_2^--N in extracts of tropical soils, upon addition of activated charcoal during the extraction process.

Keywords: Calibration; Berthelot reaction; Griess-Ilosvay reaction; Activated coal; Soil extracts

2.1 Introdução

A determinação de nitrogênio mineral (N mineral), N-NH_4^+, N-NO_2^- e N-NO_3^-, em extratos de solo é uma análise muito comum em experimentos que avaliam a fertilidade do solo, principalmente quando submetidos à algum tipo de fertilização nitrogenada, seja ela de natureza orgânica ou mineral.

Diversos métodos estão disponíveis para determinação destes íons em solução, com destaque para destilação à vapor (BREMNER; KEENEY, 1965)[1], microdifusão (SAGHIR et al., 1993)[2], colorimétrico (KEENEY; NELSON, 1982; NELSON, 1983; DORICH; NELSON, 1984)[3], eletrodo íon-seletivo (BANWART et al., 1972; BREMNER et al., 1968)[4] e condutivímetro (REIS et al., 1997)[5]. As vantagens e desvantagens de cada método estão descritas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 – Observações sobre as características positivas (+) e negativas (-) de manuseio e utilização dos métodos de determinação de N mineral

Método	**Observações**
Destilação à Vapor[1]	(+) mais confiável, preciso, ampla adoção e de baixo custo. O mais utilizado. Pode ser utilizado na quantificação de isótopos (-) laborioso, lento e geração de grande volume de resíduo
Microdifusão[2]	(+) simples, confiável, e de baixo custo. Exige pouco equipamento. Pode ser utilizado na quantificação de isótopos. (-) muito lento, laborioso e de sensibilidade limitada.
Colorimétrico[3]	(+) rápido, simples, muito sensível e passível de automação (-) regentes e equipamentos específicos, e de custo relativamente elevado
Eletrodo Íon-Seletivo[4]	(+) mais rápido, prático e altamente específico (-) custo muito elevado
Condutivimétrico[5]	(+) simples, muito sensível e passível de automação (-) regentes e equipamentos específicos, e de custo relativamente elevado

Fonte: Adaptado de Mulvaney (1996)

Mesmo com todos esses métodos já validados em diversas adaptações e com amplas possibilidades de utilizações, a escolha do método mais adequado para

quantificação de N mineral dependerá de muitas variáveis, dentre elas: disponibilidade de equipamentos, reagentes e verba, tempo, sensibilidade e acurácia desejada, quantidade de amostras e frequência de coleta, e extrator utilizado (MULVANEY, 1996).

Na quantificação colorimétrica de N-NH_4^+, a sequência de reações mais utilizadas é a chamada reação de Berthelot, descoberta em 1859. O autor observou que uma coloração azul era obtida quando amônia, fenol e hipoclorito eram misturados em sequência; desde então esta reação sofreu diversas alterações e modificações para ser adaptada segundo a finalidade de uso (TARAS, 1958). A aplicação deste método é muito ampla, sendo regularmente encontrada como reação primordial em metodologia para determinação de N-NH_4^+ em alimentos, água doce e salina, petróleo, gases, metais (metalurgia) produtos farmacêuticos e muitos outros (SEARLE, 1984). Em ciências agrárias não é diferente, sendo empregada em materiais vegetais (DAVIDSON et al., 1970), solos e seus extratos (NELSON, 1983), além de fertilizantes (SEELY et al., 1967).

Nelson (1983) descreve este método como a detecção do espectro emitido pelo composto verde-azulado formado quando a amônia e o salicilato de sódio reagem na presença de hipoclorito de sódio em pH alcalino. Segundo Krom (1980), autor da modificação da reação de Berthelot, ao usar salicilato de sódio em substituição ao fenol, a sequência de reação se inicia com o desprendimento do H^+ do NH_4^+ em meio alcalino (pH inicial = 12-13) formando NH_3, que reage com o hipoclorito (ClO^-), formando um composto chamado monocloramina (NH_2Cl). Este reage com o salicilato para então formar a benzoquinona monoamina, que em sequência se acopla com outra molécula de salicilato, resultando finalmente no composto chamado azul de indofenol, o qual possui coloração verde-azulada e com absorbância máxima no comprimento de onda de 667 nm.

Adicionalmente, a utilização de catalisadores, como nitroprussiato de sódio, aceleram a reação e aumentam a intensidade do desenvolvimento da cor do azul de indofenol (LUBOCHINSKY; ZALTA, 1954), enquanto a adição de agentes quelantes (NaEDTA) previnem a formação e precipitação de hidróxidos de cátions em pH alcalino, existentes nos extratos de solo, e sua possível interferência na leitura do equipamento (HINDS; LOWE, 1980).

Mesmo com diversas modificações e adaptações, essa reação ainda está sujeita à ação interferente de metais, não-metais, efeito salino, luminosidade e

compostos nitrogenados. Em extratos de solo os compostos nitrogenados, oriundos constituintes principalmente da matéria orgânica, podem afetar positivamente ou negativamente a quantificação de $N\text{-}NH_4^+$ (DOMNAS, 1961; SEELY et al., 1967).

Assim como na determinação de $N\text{-}NH_4^+$, a de $N\text{-}NO_3^-$ também possui mais de uma via, entretanto, a maioria delas está sujeita à ação de interferentes ordinariamente encontrados em solos e seus extratos, dificultando muito sua utilização. Nesta situação, a utilização do método de Griess-Ilosvay para determinação de $N\text{-}NO_2^-$ possui a melhor e mais fácil performance, bastando apenas reduzir previamente o $N\text{-}NO_3^-$ à $N\text{-}NO_2^-$ (MULVANEY, 1996).

Originalmente a reação de Griess depende da diazotização (transferência do grupo diazo ($N\text{-}NO_2^-$) para substâncias carboniladas) do ácido sulfanílico, seguido do seu acoplamento com naftilamina em solução com ácido sulfúrico, formando compostos passíveis de serem medidos por seu espectro. Anos depois, Ilosvay modificou o procedimento tornando a reação mais rápida e sensível. Assim, o método foi chamado posteriormente de Griess-Ilosvay (TARAS, 1958).

A aplicação deste método é tão ampla quanto àquela descoberta por Berthelot e, portanto, também sofreu diversas modificações e adaptações. Shinn (1941) modificou o método ao substituir o ácido sulfanílico e a naftilamina por sulfanilamida e naftiletilenodiamina, respectivamente, alegando que a velocidade de acoplamento entre os compostos era lenta. Esta modificação aumentou a velocidade de acoplamento, resultando em aumento da estabilidade e velocidade de desenvolvimento da cor, e consequentemente, da sensibilidade do método (SHINN, 1941).

A reação de Griess-Ilosvay pode ser empregada tanto para determinação de $N\text{-}NO_2^-$ quanto para de $N\text{-}NO_3^-$ e de $N\text{-}NO_2^-$ + $N\text{-}NO_3^-$. Porém, em materiais como solos, nos quais as quantidades de $N\text{-}NO_2^-$ são muito diminutas, além de instáveis, a detecção separada das formas minerais do N oxidado é inapropriada visto o ciclo biogeoquímico do $N\text{-}NO_2^-$ para as condições edáficas tropicais (CARDOSO NETO et al., 2006).

Segundo Cantarella (2007), um dos fatores que afeta o teor de $N\text{-}NO_2^-$ nos solos agrícolas é a elevada velocidade de reação da nitratação, que é a transformação de $N\text{-}NO_2^-$ em $N\text{-}NO_3^-$ pelas bactérias do gênero *Nitrobacter*. Isso porque a reação é exotérmica, porém de baixa entalpia quando comparada com a reação de nitritação pelas bactérias do gênero *Nitrosomonas*, portanto, uma grande

quantidade de substrato ($N\text{-}NO_2^-$) é processada para suprir energeticamente estas bactérias quimiolitotróficas. Assumindo que os teores de $N\text{-}NO_2^-$ em solos tropicais cultivados são ínfimos a ponto de terem pouca expressão agronômica, é possível proceder a redução do $N\text{-}NO_3^-$ à $N\text{-}NO_2^-$ através de um agente redutor, sendo este normalmente um elemento metálico na forma elementar ou de composto (MULVANEY, 1996).

Da mesma forma que a reação de Berthelot, a reação de Griess-Ilosvay também está sujeita à ação de interferentes como agentes oxidantes e redutores, complexos orgânicos, precipitados, corantes, agentes perturbadores de pH e compostos nitrogenados (TARAS, 1958). Segundo este autor, compostos nitrogenados do grupo das aminas, como a ureia, podem reagir com o nitrito, gerando óxidos gasosos nitrogenados.

Para evitar a interferência dos compostos orgânicos nitrogenados nas reações de determinação de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ é necessário o tratamento dos extratos para retenção destes compostos, a fim de deixá-los relativamente inertes. Inúmeros trabalhos comprovam que o carvão ativado possui característica de sorver (adsorver/absorver) diversos compostos orgânicos e inorgânicos, sendo empregado tanto em processos industriais quanto agrícolas (DIPPOLD et al., 2014; PAIVA et al., 2012; RIVERA-UTRILLA et al., 2011; NGUYEN et al., 2007; PIGNATELLO et al., 2006). Esta característica sortiva é derivada da ação conjunta de propriedades físicas (área superficial específica, densidade aparente, entre outros) e químicas (principalmente grupos funcionais) do produto, e possui uma especificidade relativa para cada sorvato (SILVA, 2009).

Dentro das utilizações de caráter agrícola, destaca-se neste trabalho, o emprego do carvão ativado em análises de caracterização dos atributos químicos da fertilidade do solo, principalmente nas metodologias de determinação de $S\text{-}SO_4^{-2}$ por turbidimetria, tendo como função a sorção da matéria orgânica solúvel nos extratos de solo para evitar ruídos na leitura (FOX et al., 1987; CANTARELLA; PROCHNOW, 2001).

Considerando que os resultados dos experimentos introdutórios e preliminares deste trabalho não se apresentaram satisfatórios para os testes de exatidão e precisão de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ determinados nos extratos de solos através das metodologias colorimétricas (MULVANEY, 1996; MIRANDA et al., 2001) e da metodologia padrão de destilação à vapor (BREMNER; KEENEY, 1965), criou-se a

hipótese de que a adição de carvão ativado durante o processo de extração do N mineral do solo é capaz de sorver compostos orgânicos nitrogenados interferentes, e consequentemente reduzir seus ruídos nas quantificações colorimétricas. Portanto, o objetivo deste estudo foi adaptar e validar os métodos colorimétricos de determinação de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ + $N\text{-}NO_2^-$ em extratos salinos de solos tropicais por meio da adição de carvão ativado durante o processo de extração.

2.2 Material e Métodos

Diversos experimentos em laboratório foram realizados visando avaliar a viabilidade de substituição do método da destilação à vapor pelos métodos colorimétricos de análise de N mineral em extratos de solos. O sistema de destilação à vapor, apesar de consolidado e utilizado em vários laboratórios, é trabalhoso, pode gerar contaminação cruzada entre as amostras e ainda apresenta o inconveniente de gerar quantidades consideráveis de resíduos no laboratório (Tabela 2.1). Assim, este trabalho foi dividido em três experimentos distintos:

2.2.1 Experimento 1

Para analisar o N mineral em solos normalmente se adota a extração com solução KCl. Entretanto, também pode-se adotar a extração com solução K_2SO_4 quando existir indícios de que o Cl^- pode atrapalhar a quantificação dos teores de $N\text{-}NH_4^+$ ou $N\text{-}NO_3^-$ ou ainda causar problemas aos equipamentos utilizados. Neste sentido, uma avaliação preliminar foi realizada para comparar as soluções salinas KCl 2,0 mol L^{-1} e o K_2SO_4 0,5 mol L^{-1} como extratores de N mineral no solo com posterior determinação pelos métodos colorimétricos. Neste mesmo experimento também foram avaliados diferentes tempos de reação após mistura dos reagentes com as soluções contendo N mineral, visando avaliar a influência do tempo no desenvolvimento da cor e seu possível efeito na quantificação dos teores de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$. A seguir uma breve descrição do protocolo empregado:

1) Concentrações crescentes de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ (0, 2,5, 5,0, 7,5 e 10,0 mg L^{-1}), nas formas de sulfato de amônio ($(NH_4)_2SO_4$) e nitrato de potássio (KNO_3), foram preparadas utilizando solução de KCl 2,0 mol L^{-1} e K_2SO_4 0,5 mol L^{-1};

2) Adição dos reagentes às amostras (1), seguindo os procedimentos descritos em Mulvaney (1996) e Miranda et al. (2001), que serão detalhados posteriormente;

3) Aguardar diferentes tempos de reação (0, 15, 30, 60, 90 e 120 min);

4) Detecção dos teores de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ utilizando um espectrofotômetro automatizado para leitura de microplacas (Cary 50, Varian, Austrália).

2.2.2 Experimento 2

Uma vez definido o melhor extrator para N mineral no solo, assim como o tempo de reação, um segundo experimento foi realizado visando comparar o método colorimétrico e o método da destilação à vapor na determinação de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ em amostras de solos.

Foram utilizadas seis amostras de solo da camada de 0 a 20 cm em dois locais do Estado de São Paulo. Os solos pertenciam a ordem dos Latossolos e variavam consideravelmente em relação à textura, uso da terra (mata nativa e sistema agrícola) e manejo da adubação (fertilização nitrogenada de natureza mineral e orgânica). As amostras de solo estavam congeladas previamente às análises. Estas foram descongeladas e logo em seguida procedeu-se a extração do N mineral com solução KCl 2,0 mol L^{-1} (relação solo:solução 1:5). Após adição do KCl, as amostras foram agitadas em agitador horizontal durante uma hora e posteriormente filtradas em papel de filtro quantitativo nº 42 por gravidade. O teor de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ + $N\text{-}NO_2^-$ foram quantificados nas alíquotas pelos métodos de destilação à vapor (Bremner e Keeney, 1965) e pelo método colorimétrico (MULVANEY, 1996), em triplicata. Também foi determinada a umidade das amostras de solo permitindo apresentar os resultados em mg kg^{-1} (base seca).

Como será observado posteriormente na seção Resultados e Discussão, houve diferença significativa entre os teores de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ + $N\text{-}NO_2^-$ quantificados pelos dois métodos. A hipótese levantada é de que a presença de interferentes nos extratos pode estar gerando distúrbios na leitura do espectrofotômetro, mais precisamente a presença de nitrogênio orgânico dissolvido ou outros interferentes. Por essa razão, um terceiro experimento foi realizado em sequência visando eliminar esta interferência por meio da adição de carvão ativado

no procedimento de extração do N mineral das amostras de solo, os quais serão detalhadamente descritos a seguir.

2.2.3 Experimento 3

Este experimento consistiu da comparação entre os métodos colorimétricos e a destilação à vapor de extratos de solo para quantificação dos teores de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ + $N\text{-}NO_2^-$, utilizando KCl 2,0 mol L^{-1} como solução extratora e tempo de reação de 30 min, conforme definido nas etapas preliminares, assim como adição ou não de carvão ativado no momento da extração do N mineral do solo. Além disso, as determinações foram realizadas em extratos de solo com e sem adição de N mineral (chamado de N exógeno). Para esta etapa do estudo os procedimentos foram detalhadamente descritos, conforme as etapas apresentadas em sequência.

2.2.3.1 Preparo das soluções padrão

As soluções padrão foram feitas seguindo os mesmos procedimentos de extração descritos no protocolo de Mulvaney (1996), porém sem o solo, para que se assemelhassem àqueles extratos de solo a serem determinados.

Preparou-se a solução extratora de KCl 2,0 mol L^{-1} sendo em seguida repartida em dois volumes iguais, na qual uma delas foi mantida original e à outra adicionado carvão ativado na proporção de 0,1 g para cada 25 mL da solução (CANTARELLA; PROCHNOW, 2001). Estas foram armazenadas em frascos de polietileno e então colocados sob agitação a 180 rpm em mesa agitadora horizontal durante uma hora (Marconi, modelo MA 139/CFT). Após este período, as soluções foram filtradas em papel de filtro quantitativo faixa azul nº 42 (Nalgon Ref. 3552), previamente lixiviado com solução KCl 2,0 mol L^{-1} a fim de remover possíveis quantidades de $N\text{-}NH_4^+$ no papel.

As soluções filtradas foram divididas, transferindo-as em balões volumétricos de 100 mL para elaborar as soluções padrão. As concentrações utilizadas foram 0, 2,5, 5,0, 7,5 e 10,0 mg L^{-1} de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$, usando para isso os sais $(NH_4)_2SO_4$ e KNO_3, previamente secos a 105 °C por 24 h em estufa sem circulação forçada de ar e posteriormente mantidos em dessecadores até sua utilização. Ao final, cada solução padrão continha os mesmos teores de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$.

2.2.3.2 Extração (N mineral endógeno)

Realizou-se a extração de uma amostra da camada de 0-20 cm de um solo previamente classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo, situado na ESALQ/USP, Piracicaba/SP. O procedimento de extração seguiu o mesmo protocolo descrito por Mulvaney (1996).

O solo coletado foi imediatamente levado ao laboratório onde foi homogeneizado e retirado duas amostras de 250 g. Ambas as amostras foram separadamente transferidas para dois frascos de polietileno de volume 1,5 L. Em apenas um dos frascos foi adicionado 5,0 g de carvão ativado (proporção de 0,1 g de carvão ativado para cada 5,0 g de solo úmido (CANTARELLA; PROCHNOW, 2001). Em seguida um volume igual a 1,25 L de KCl 2,0 mol L^{-1} (relação solo:solução de 1:5) foi dispensado no frasco, e então colocados sob agitação a 180 rpm em mesa agitadora horizontal durante uma hora (Marconi, modelo MA 139/CFT). Após este período, a suspensão coloidal (solo + solução salina) foi filtrada por gravidade em papel de filtro quantitativo nº 42 (Nalgon Ref. 3552), previamente lixiviado com solução KCl 2,0 mol L^{-1} a fim de remover possíveis quantidades de N-NH_4^+ no papel. Passadas três horas os extratos foram recolhidos, homogeneizados separadamente e transferidos em dois conjuntos de cinco balões volumétricos de 250 mL, previamente lavados com solução ácida (HCl 10%), sendo armazenados à 4 °C em refrigerador até sua utilização.

2.2.3.3 Adição de N mineral exógeno

Quantidades equivalentes à 0, 5,0, 10,0, 25,0, 50,0 mg L^{-1} de N-NH_4^+ e N-NO_3^-, na forma de $(NH_4)_2SO_4$ e KNO_3, respectivamente, foram adicionadas aos dois conjuntos de extratos de solo. Obteve-se então extratos com teores de N mineral exclusivamente endógeno e N mineral endógeno + exógeno.

2.2.3.4 Determinação pelo método de destilação à vapor

O teor de N-NH_4^+ e N-NO_3^- nos extratos foram determinados em triplicata pelo método de destilação à vapor, conforme Bremner e Keeney (1965). Foi destilado álcool absoluto sempre antes de iniciar o procedimento de destilação dos extratos, e

também entre a mudança de extratos contendo concentrações distintas de N, para arrastar todo e qualquer N-NH_3 residual. Em seguida o mesmo procedimento foi realizado com adição de água deionizada.

Para determinação de N-NH_4^+ nos extratos seguiram-se os seguintes procedimentos: (1) transferir 10 mL de solução indicadora de ácido bórico (H_3BO_3) à 2% em um béquer de 50 mL; (2) posicionar o béquer na saída do condensador à uma distância de um cm da solução; (3) transferir alíquotas de 50 mL dos extratos em balão de destilação de 250 mL; (4) adicionar ao balão 0,2 g de óxido de magnésio (MgO), previamente calcinado em mufla à 600 °C por duas horas; (5) acoplamento imediato e fixo do balão ao destilador e elevar a vazão de vapor; (6) aguardar entre 3 e 4 minutos, ou até que o béquer na saída do condensador atinja um volume aproximado de 40 mL; (7) retirar o béquer, diminuir a vazão de vapor, desacoplar o balão de destilação e reserva-lo; (8) titular a solução de ácido bórico à 2% contendo o N-NH_4^+ destilado com ácido sulfúrico (H_2SO_4) padronizado a 0,025 mol L^{-1}, com auxílio de bureta digital; (9) encerrar a titulação quando a solução indicadora mudar sua cor de verde para rosa, e anotar o volume (mL) de ácido sulfúrico gasto; (10) operação de cálculos (Equação 2.1) para transformar o valor da titulação em concentração (mg L^{-1}).

Em continuidade, o procedimento de determinação de N-NO_3^- nos extratos foi efetuado como segue: (1) transferir 10 mL de solução indicadora de ácido bórico (H_3BO_3) à 2% em um béquer de 50 mL; (2) posicionar o béquer na saída do condensador à uma distância de um cm da solução; (3) adicionar 0,2 g de liga de Devarda ao mesmo balão que contém o extrato anteriormente destilado para N-NH_4^+; (4) repetir os passos 5, 6, 7, 8 e 9 citados no procedimento para determinação de N-NH_4^+.

2.2.3.5 Determinação pelo método colorimétrico

A faixa linear de trabalho dos métodos colorimétricos para determinação de N-NH_4^+ e N-NO_2^- + N-NO_3^- se limita à baixas concentrações destes íons em solução. Isso porque estes íons perdem sensibilidade de detecção quando as concentrações se aproximam de 10,0 mg L^{-1} de N mineral. Portanto, os extratos de solo com concentrações iguais ou superiores a este valor (10,0, 25,0 e 50,0 mg L^{-1}) foram diluídos para atingir concentração final de 5,0 mg L^{-1}, enquanto que extratos de

concentrações inferiores (0 e 5,0 mg L^{-1}) foram mantidos. Esses extratos foram submetidos ao protocolo da metodologia descrita por Mulvaney (1996) e Miranda et al. (2001), respectivamente para as determinações das concentrações de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_2^-$ + $N\text{-}NO_3^-$ por colorimetria, em quintuplicata, descritos a seguir.

Para a determinação de $N\text{-}NH_4^+$ nos extratos seguiram-se os seguintes procedimentos: (1a) preparo da solução de salicilato-nitroprussiato: dissolução de 1,5626 g de salicilato de sódio ($C_7H_5NaO_3$) e 0,0025 g de nitroprussiato de sódio dihidratado ($C_5FeN_6Na_2O$ $2H_2O$) em 20 mL de água deionizada; (1b) preparo da solução tampão: 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 (solução desinfetante comercial recém aberta); (1c) preparo da solução complexante: dissolução de 0,6 g de ácido etilenodinitrilotetracetico sal dissódico (NaEDTA – $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8$ $2H_2O$) em 10 mL de água deionizada; (2) pipetagem de 150 µL do extrato e amostras padrão em cada uma das 96 células de uma microplaca de fundo chato de poliestireno (Corning 3641, Nova Iorque, EUA); (3) adição de 15 µL da solução 1c em cada célula; (4) homogeneização das soluções posicionando a placa em agitador do tipo vortex por 15 s; (5) adição de 60 µL da solução 1a em cada célula; (6) repetir passo 4; (7) adição de 30 µL da solução 1b em cada célula; (8) repetir passo 4; (9) aguardar 30 min para desenvolvimento da coloração verde-azul; (10) leitura da absorbância em espectrofotômetro automatizado (Cary 50, Varian, Austrália) no comprimento de onda de 667 nm; (11) operação de cálculos (Equação 2.2) para transformar o valor da absorbância em concentração (mg L^{-1}).

Para determinação de $N\text{-}NO_3^-$ nos extratos seguiu os seguintes procedimentos: (1a) preparo da solução redutora: dissolução de 0,16 g de cloreto de vanádio (VCl_3) em 20 mL de solução de HCl 1,0 mol L^{-1}; (1b) preparo da solução de acoplamento; dissolução de 0,02 g de dicloridrato alfa-naftil-etilenodiamina (NEDD – $C_{10}H_{14}N_2$ 2HCl) em 20 mL de água deionizada; (1c) preparo da solução de sulfanilamida: dissolução de 0,4 g de sulfanilamida ($C_6H_8N_2O_2S$) em 20 mL de solução ácida de HCl 5% (v/v); (2) pipetagem de 100 µL do extrato e amostras padrão em cada uma das 96 células de uma microplaca de fundo chato de poliestireno (Corning 3641, Nova Iorque, EUA); (3) adição de 100 µL da solução 1a em cada célula; (4) homogeneização das soluções posicionando a placa em agitador do tipo vortex por 15 s; (5) adição de 50 µL da solução 1b em cada célula; (6) repetir

passo 4; (7) adição de 50 µL da solução 1c em cada célula; (8) repetir passo 4; (9) aguardar 30 min para desenvolvimento da coloração rosa intensa; (10) leitura da absorbância em espectrofotômetro automatizado (Cary 50, Varian, Austrália) no comprimento de onda de 540 nm; (11) operação de cálculos (Equação 2.2) para transformar o valor da absorbância em concentração (mg L^{-1}).

2.2.3.6 Cálculos

Empregou-se a seguinte sequência de cálculos para a quantificação do conteúdo de N mineral pelo método de destilação à vapor (2.1) e os métodos colorimétricos (2.2):

$$Cd = ((Va - Vb) \times A \times N \times 1000)/Ve \qquad (2.1)$$

Onde: *Cd* = concentração de N mineral (mg L^{-1}) pelo método de destilação à vapor; *Va* = volume de H_2SO_4 utilizado para titular a amostra (mL); *Vb* = volume de H_2SO_4 utilizado para titular o branco (mL); *A* = massa molar do N (g mol^{-1}); *N* = normalidade do H_2SO_4 utilizado na titulação (mol L^{-1}); *1000* = transformação de mL para L; *Ve* = volume do extrato utilizado na destilação (50 mL).

$$Cc = [(a \times A) + b] \times f \qquad (2.2)$$

Onde: *Cc* = concentração de N mineral (mg L^{-1}) pelo método colorimétrico; *a/b* = coeficiente angular/linear da equação gerada a partir da curva padrão; *A* = absorbância (leitura do equipamento); *f* = fator de multiplicação da diluição.

2.2.3.7 Validação da adaptação do método colorimétrico

Para validação da adaptação do método colorimétrico, foi adotado como referência os procedimentos descritos no guia de métodos de análises oficiais da Association of Official Analytical Chemists International (AOAC International, 2005). Os parâmetros analisados foram: seletividade; linearidade; sensibilidade; exatidão; limite de detecção; limite de quantificação; precisão; e comparação da precisão entre métodos.

- Seletividade

A seletividade, ou especificidade, está relacionada ao grau com que o método responde unicamente ao analito exigido. Desta forma, estudos que visam realizar este ensaio investigam os efeitos dos prováveis interferentes. Neste ensaio, fez-se um comparativo entre as curvas de regressão dos resultados obtidos com as amostras padrão (N exógeno) e com os extratos de solo (N endógeno + exógeno), ambos com adição de carvão ativado. O método é considerado seletivo quando as curvas forem muito paralelas entre si e a razão entre seus coeficientes angulares (a) se aproximar à 1.

- Linearidade e sensibilidade

Tanto a linearidade quanto a sensibilidade de um método podem ser observadas graficamente. O coeficiente de determinação (r^2) é frequentemente utilizado para indicar a adequação do método quanto a linearidade, enquanto o coeficiente angular (a) é utilizado para avaliar a sensibilidade deste. Assim, pequenas variações na absorbância podem resultar em maior variação na resposta, neste caso na concentração de N mineral. Neste ensaio ambos parâmetros foram avaliados através dos resultados obtidos na regressão da curva padrão com adição de carvão ativado. O INMETRO recomenda um *r* de 0,99, ou r^2 de 0,98.

- Exatidão

Uma metodologia será tão exata quanto mais próximos forem os resultados obtidos em relação ao valor verdadeiro. Genericamente ela é expressa como recuperação analítica, ou seja, a porcentagem da razão entre o valor observado e o valor esperado. Para esta avaliação utilizou-se os ensaios de recuperação do analito, que basicamente consiste em comparar amostras de extratos de solo suplementadas com quantidades conhecidas de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$, com aquelas sem suplementação das mesmas espécies iônicas nitrogenadas, sendo calculada de acordo com a Equação (2.3).

$$R = ((Cf - Cnf)/Cf) \times 100 \quad (2.3)$$

Onde: *R* = recuperação do analito (%); *Cf* = concentração do analito na amostra com suplementação de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ (mg L^{-1}); *Cnf* = concentração do analito na amostra sem suplementação de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$).

Aos resultados das recuperações aplicou-se o teste t de Student para amostra única, relacionando-os com seus respectivos níveis de probabilidade.

- Limite de detecção (LD)

É a menor quantidade detectada do analito que pode ser considerada significativamente maior do que a medida do desvio padrão das amostras em branco, com certo nível de confiança (usualmente 95%). O LD foi calculado pela média dos valores das amostras em branco, somado três vezes seu desvio padrão.

- Limite de quantificação (LQ)

É a menor quantidade detectada do analito que pode ser quantitativamente determinada com adequada precisão e exatidão sobre condições previamente estabelecidas. O LQ foi calculado pela média dos valores das amostras em branco, somado dez vezes seu desvio padrão.

- Precisão

Precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de avaliações da amostragem múltipla de uma mesma amostra. Este parâmetro foi avaliado pela repetitividade dos extratos de solo através da variância e do coeficiente de variação (CV), que indicam a variabilidade observada dentro das medições realizadas sucessivamente seguindo os mesmos procedimentos, analistas, instrumentação e dentro de um curto espaço de tempo. Quanto menores as variações dos métodos em determinada concentração, maior é sua precisão. Aos resultados das variâncias nas determinações com e sem adição de carvão ativado aplicou-se o teste F de Fisher-Snedecor, relacionando-os com seus respectivos níveis de probabilidade.

- Comparação da precisão entre métodos

Consiste na comparação dos resultados obtidos utilizando um método a ser validado (colorimétrico) com os resultados obtidos por meio de um método de referência validado (destilação à vapor), objetivando estudar o grau de proximidade dos resultados obtidos por ambos em toda a faixa de concentrações. Como pré-requisito para esta comparação, ambos os métodos já devem possuir exatidão adequada para então proceder com o Teste F de Fisher-Snedecor. Adicionalmente foi aplicado o teste t de Student a fim de comparar as médias dos métodos. Segundo a AOAC International (2005) não é necessária a definição de nenhum nível de significância nos testes estatísticos aplicados na validação de qualquer parâmetro, entretanto, os níveis de probabilidade (valor-p) serão apresentados.

2.3 Resultados e Discussão

O ensaio preliminar avaliando as duas soluções extratoras (KCl 2,0 mol L^{-1} e K_2SO_4 0,5 mol L^{-1}) e os tempos de reação demonstraram que em ambas soluções extratoras ao aumentar a concentração de $N\text{-}NH_4^+$ eleva-se também seus respectivos erros padrão em todos os tempos de reação (Figura 2.1). Entretanto, os resultados das leituras de $N\text{-}NH_4^+$ em solução de KCl nas concentrações 0, 2,5 e 5,0 mg L^{-1} possuíram os menores erros padrão da média comparadas àquelas mesmas em solução de K_2SO_4, seja qual for o tempo de reação. Este comportamento auxiliou na escolha da solução extratora e também foi útil para demonstrar que o método colorimétrico apresentou maior precisão em baixas concentrações de $N\text{-}NH_4^+$ na solução, uma vez que o sistema de resposta do equipamento gera ruídos em concentrações superiores a 7,5 mg L^{-1} (Figura 2.1).

O tempo de reação teve maior influência para determinação de $N\text{-}NO_3^-$ do que para $N\text{-}NH_4^+$ (Figuras 2.1 e 2.2). Porém, para $N\text{-}NO_3^-$ foi possível observar que o sistema de reposta do equipamento permite que a faixa linear de trabalho atinja valores de até 10,0 mg L^{-1}, pois os valores dos erros padrão das médias foram baixos e constantes em todas as concentrações. Assim como para $N\text{-}NH_4^+$, a utilização de solução de KCl 2,0 mol L^{-1} apresentou resultados promissores, permitindo concluir que é possível utilizar esta solução sem interferências do íon Cl^- na leitura do equipamento. Além dos resultados favoráveis, a solução de KCl já é

amplamente utilizada em laboratórios de análise a apresenta custo mais baixo do que o K_2SO_4.

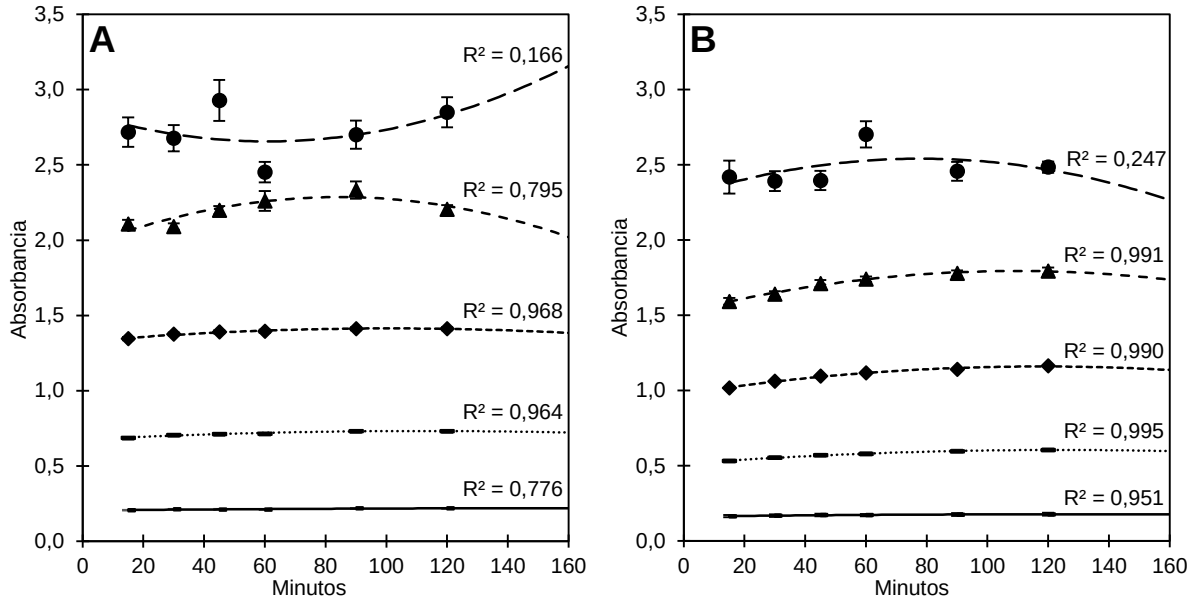

Figura 2.1 – Comportamento das leituras de $N\text{-}NH_4^+$ das amostras padrão (polinomial de 2º grau) nas concentrações de 0 (·), 2,5 (-), 5,0 (♦), 7,5 (▲) e 10,0 (●) mg L^{-1} em diferentes tempos de reação (15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos) nas soluções de KCl 2,0 mol L^{-1} (**A**) e K_2SO_4 0,5 mol L^{-1} (**B**). Os pontos representam os valores médios e as barras verticais o erro padrão da média (n = 18)

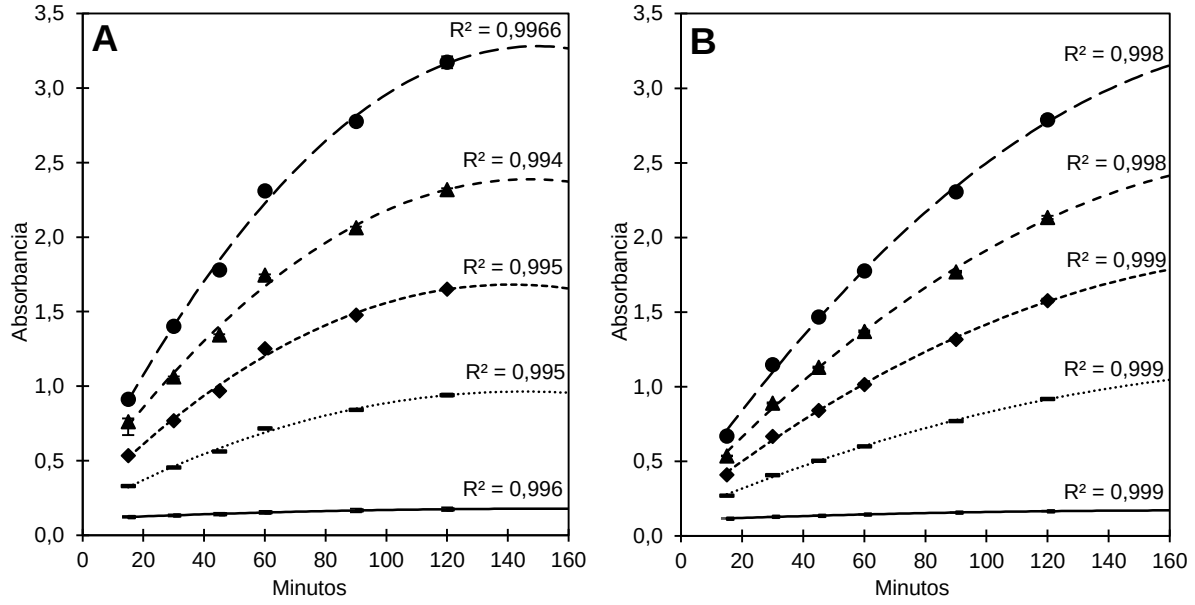

Figura 2.2 – Comportamento das leituras de $N\text{-}NO_3^-$ das amostras padrão (polinomial de 2º grau) nas concentrações de 0 (·), 2,5 (-), 5,0 (♦), 7,5 (▲) e 10,0 (●) mg L^{-1} em diferentes tempos de reação (15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos) nas soluções de KCl 2,0 mol L^{-1} (**A**) e K_2SO_4 0,5 mol L^{-1} (**B**). Os pontos representam os valores médios e as barras verticais o erro padrão da média (n = 18)

Aliado a estes resultados, as curvas padrão das leituras de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ da solução extratora de KCl possuíram maior coeficiente de determinação comparadas com àquelas de K_2SO_4, em qualquer tempo de reação (Tabela 2.2). Na média os valores de R^2 foram de 0,994 e 0,985 para as curvas padrão de $N\text{-}NH_4^+$, e de 0,999 e 0,998 para as curvas padrão de $N\text{-}NO_3^-$ em soluções extratoras de KCl e K_2SO_4 respectivamente. Assim, todos esses resultados forneceram informações suficientes para escolher como solução extratora padrão o KCl 2,0 mol L^{-1}.

Os valores dos coeficientes angulares desta solução possibilitaram escolher o tempo de reação para realização da leitura no espectrofotômetro. Quanto maior o tempo de reação para realização da leitura do $N\text{-}NO_3^-$, menor o coeficiente angular da curva padrão. Portanto, há maior sensibilidade na sua determinação com menores tempos de reação. Desta forma, o tempo de reação escolhido foi o de 30 min, pois possui boa sensibilidade em ambas as determinações, permitindo ainda otimizar o rendimento analítico.

Tabela 2.2 – Coeficientes das equações das curvas padrão considerando as soluções utilizadas nos diferentes tempos de reação para as concentrações de 0, 2,5, 5,0, 7,5 e 10,0 mg L^{-1} de N mineral

Tempo de reação (min)	**KCl**			**K_2SO_4**		
	a	**b**	**r^2**	**a**	**b**	**r^2**
			$N\text{-}NH_4^+$			
15	3,8355	-0,4329	0,995	4,3975	-0,0302	0,977
30	3,9477	-0,5745	0,997	4,4507	-0,1782	0,985
45	3,5457	-0,3038	0,993	4,4272	-0,2656	0,990
60	4,0167	-0,6632	0,994	3,9083	-0,0665	0,973
90	3,6527	-0,4644	0,993	4,3148	-0,3078	0,992
120	3,6322	-0,4263	0,995	4,2749	-0,3232	0,992
			$N\text{-}NO_3^-$			
15	12,184	-1,4871	0,999	18,157	-2,2647	0,999
30	7,9432	-1,0713	0,999	9,8974	-1,4116	0,999
45	6,1515	-0,8992	0,999	7,5941	-1,1926	0,998
60	4,6763	-0,7788	0,999	6,1832	-1,0670	0,998
90	3,8747	-0,6775	0,999	4,7039	-0,9455	0,997
120	3,3874	-0,5909	0,999	3,8579	-0,8517	0,997

a = coeficiente angular; *b* = coeficiente linear; r^2 = coeficiente de determinação; *y* = concentração de N mineral em mg L^{-1}; *x* = absorbância

Os resultados do experimento 2 indicam haver baixa precisão na determinação de N mineral pelos métodos colorimétricos, principalmente no caso do $N\text{-}NO_3^-$. Na comparação entre as médias das determinações de N mineral em ambos os métodos a aplicação do teste t de Student mostrou-se altamente significativo.

Para N-NH_4^+ os valores de probabilidade foram essencialmente menores que 0,4%, enquanto para N-NO_3^- esses valores foram menores que 0,003%. Logo, os métodos colorimétricos não foram capazes de reproduzir os resultados obtidos pelo método padrão (destilação à vapor) (Figura 2.3). A hipótese é de que a presença de compostos solúveis, como N orgânico dissolvido e outras frações, possam estar interferindo positivamente nas reações do método colorimétrico utilizado para determinação de N-NH_4^+ e negativamente para N-NO_3^-, especialmente nos solos tropicais avaliados neste estudo.

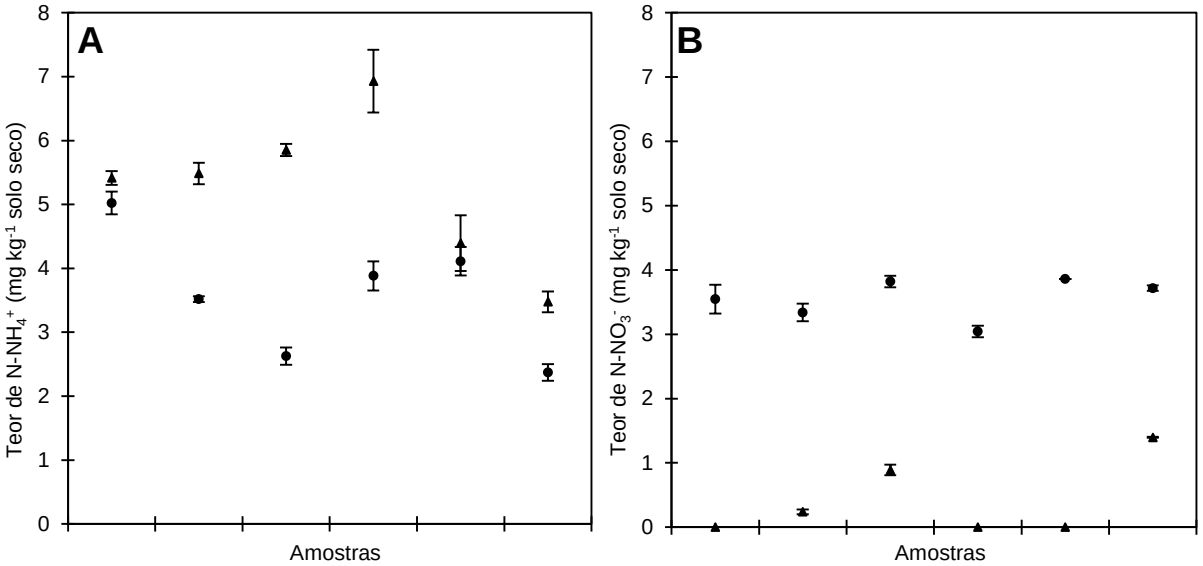

Figura 2.3 – Precisão das determinações dos teores de N-NH_4^+ (**A**) e N-NO_3^- (**B**) pelos métodos colorimétricos e (▲) destilação à vapor (●), sem utilização de carvão ativado. Os pontos representam os valores médios e as barras verticais o erro padrão da média (n = 5)

Buscando eliminar tais interferências, o experimento 3 foi desenvolvido comparando a adição de carvão ativado no momento da extração do N mineral do solo. A adição de carvão ativado, como esperado, afetou substancialmente o comportamento dos métodos colorimétricos.

Os valores do limite de detecção foram de 0,405 e 0,154 mg L^{-1} respectivamente para as determinações de N-NH_4^+ e N-NO_3^-, logo, teores de N mineral quantificados abaixo destes limites não se diferenciam significativamente dos valores das amostras em branco com um nível de confiança de 95%. Por outro lado, as determinações de N-NH_4^+ e N-NO_3^- em extratos de solo devem ser maiores que o limite de quantificação, respectivamente 0,737 e 0,555 mg L^{-1}, a fim de assegurar precisão e exatidão satisfatórias.

Menores valores de erro padrão da média e coeficiente de variação (CV) nas determinações de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ em toda a faixa de concentração, 0 a 50,0 mg L^{-1}, confirmam a performance superior do método colorimétrico com adição do carvão ativado. Em média o CV diminuiu de 13,3% para 3,1% na determinação do $N\text{-}NH_4^+$ e de 4,0% para 1,5% na de $N\text{-}NO_3^-$ quando introduzido o reagente, valores aceitáveis (< 4%) e recomendados por Krull e Swartz (1999) (Tabela 2.3).

O teste F de Fisher-Snedecor confirma esta superioridade ao relacionar-se com baixos níveis de probabilidade para o uso do carvão ativado nos procedimentos de extração, o qual tornou as metodologias colorimétricas de determinações de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ mais precisas quando analisado todo o conjunto de dados, mas também separadamente por concentrações, de forma a aproximar-se muito de suas respectivas curvas analíticas teóricas (Tabela 2.3). Para o íon $N\text{-}NH_4^+$ a precisão do método adaptado foi maior quanto maiores as concentrações, enquanto que para o íon $N\text{-}NO_3^-$ não houve essa relação pois nesta determinação o ruído causado pela ação interferente dos compostos orgânicos nitrogenados possui menor intensidade.

Tabela 2.3 – Comparação da precisão dos métodos colorimétricos com e sem adição de carvão ativado na determinação de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$

N min. exógeno	**Sem Carvão Ativado**			**Com Carvão Ativado**			**F calc.**	**p-F**
	$\bar{X}$	**σ²**	**CV**	$\bar{X}$	**σ²**	**CV**		
				$N\text{-}NH_4^+$				
0,0	2,52 ± 0,13	0,08	11,5	2,54 ± 0,05	0,01	4,2	7,49	3,84
5,0	7,16 ± 0,49	1,19	15,2	7,60 ± 0,24	0,29	6,6	4,14	9,90
10,0	14,05 ± 0,86	3,72	13,7	12,44 ± 0,18	0,15	3,2	24,06	0,47
25,0	31,84 ± 0,95	4,53	6,7	27,37 ± 0,10	0,05	0,8	94,68	0,03
50,0	56,93 ± 4,89	119,42	19,2	52,37 ± 0,23	0,27	1,0	442,64	0,01
Total	—	0,30	13,3	—	31,37	3,1	105,87	0,01
				$N\text{-}NO_3^-$				
0,0	3,33 ± 0,11	0,06	7,2	3,31 ± 0,04	0,01	2,4	9,21	2,69
5,0	8,40 ± 0,18	0,16	4,7	8,33 ± 0,04	0,01	1,1	20,77	0,61
10,0	14,43 ± 0,06	0,02	0,9	13,42 ± 0,13	0,09	2,2	5,22	6,93
25,0	31,37 ± 0,65	2,09	4,6	28,11 ± 0,07	0,03	0,6	78,98	0,05
50,0	60,14 ± 0,66	2,20	2,5	53,93 ± 0,34	0,59	1,4	3,73	11,53
Total	—	7,90	4,0	—	0,53	1,5	14,82	0,01

N min. exógeno = nitrogênio mineral exógeno (mg L^{-1}); $\bar{X}$ = valor médio da concentração ± erro padrão da média (mg L^{-1}); *σ²* = variância (mg² L^{-2}); *CV* = coeficiente de variação (%); *F calc.* = valor calculado de F pelo teste F de Fisher-Snedecor (σ² maior/ σ² menor) com n-1 = 4 e n-1 = 24; *p-F* = probabilidade pelo teste F de Fisher-Snedecor (%)

As curvas analíticas geradas através dos resultados de quantificação de N mineral em extratos de solo e soluções padrão, com adição de carvão ativado,

mostraram-se paralelas entre si (Figura 2.4). Isso comprova a seletividade das metodologias colorimétricas para a adaptação, numericamente expressa através da razão entre os coeficientes angulares: 0,999 e 0,971 para as determinações de N-NH_4^+ e N-NO_3^- respectivamente. Tais valores próximos de 1 indicam que o único efeito de matriz presente (solo) é a interferência natural causada pelo nível básico do analito, ou seja, não há efeito de matriz, e, portanto, o método adaptado é seletivo.

Estas mesmas curvas também comprovam a linearidade do método colorimétrico adaptado (com carvão ativado). Ambos apresentaram elevados valores de r^2: 0,996 e 0,998 para as determinações de N-NH_4^+ e N-NO_3^- respectivamente, atendendo à norma do INMETRO ($r^2 \geq 0,99$).

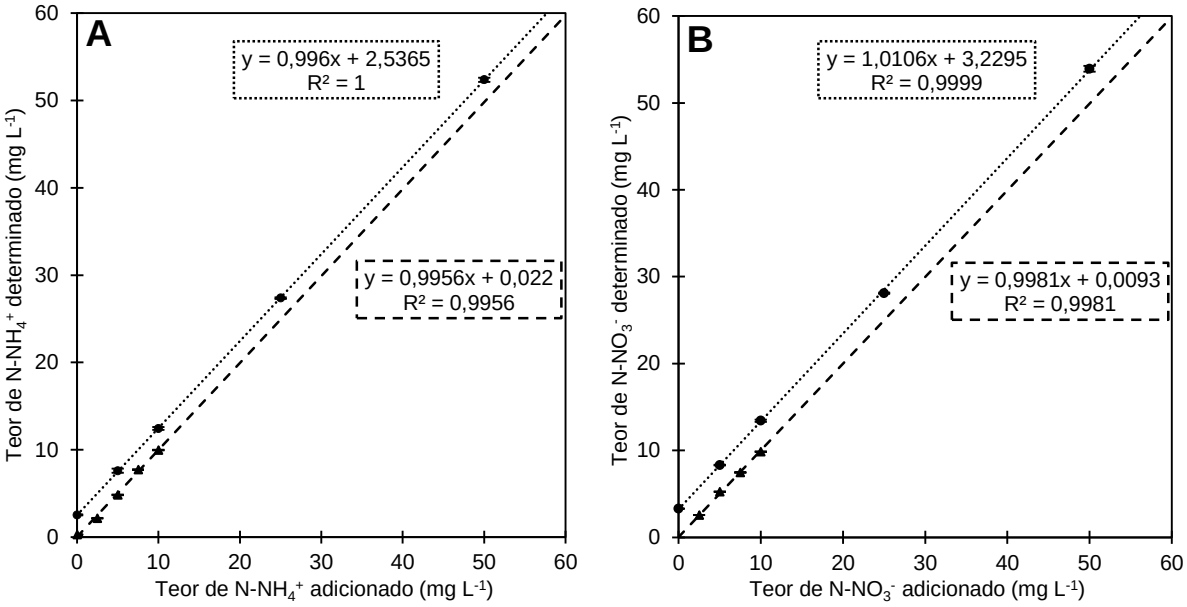

Figura 2.4 – Seletividade e linearidade do método colorimétrico com adição de carvão ativado na determinação de N-NH_4^+ (**A**) e N-NO_3^- (**B**). Curva padrão (▲) e N mineral endógeno + exógeno (●). Os pontos representam os valores médios e as barras verticais o erro padrão da média (n = 5)

Os resultados de recuperação do N mineral exógeno nos extratos de solo com adição de carvão ativado para ambos os métodos se aproximaram muito do valor teórico de recuperação (100%) em toda faixa de concentração (Tabela 2.4). O teste t de Student confirma os elevados valores de recuperação, relacionando-se com níveis de probabilidade que variam de 19,2% a 87,4% e de 19,5% a 88,1% respectivamente para N-NH_4^+ e N-NO_3^-. No total, as recuperações de N-NH_4^+ e N-NO_3^- foram respectivamente de 99,8% e 100,3%, apresentando, portanto, excelente exatidão.

Tabela 2.4 – Resultado dos testes de recuperação para avaliação da exatidão dos métodos colorimétrico com adição de carvão ativado

N min. exógeno	$N\text{-}NH_4^+$			$N\text{-}NO_3^-$		
	$\bar{X}$	t calc.	p-t	$\bar{X}$	t calc.	p-t
5,0	100,8	0,17	87,4	100,1	0,16	88,1
10,0	99,2	0,45	67,7	100,8	0,60	57,9
25,0	99,4	1,57	19,2	99,3	1,01	37,2
50,0	99,7	0,69	52,7	101,2	1,55	19,5
Total	99,8	0,13	90,6	100,3	0,80	47,1

$\bar{X}$ = valor médio do teste de recuperação (%); *t calc.* = valor calculado de t pelo teste t de Student para amostra única com n-1 = 4 e n-1 = 24; *p-t* = probabilidade pelo teste t de Student (%)

Observa-se que os resultados das médias nas determinações de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ em ambos os métodos são muito próximos, entretanto, as maiores variâncias com o aumento da concentração de N mineral exógeno deixou a comparação da precisão (colorimetria adaptada *VS* destilação à vapor) dos resultados do teste F limitada devido ao efeito de diluição das amostras (Tabela 2.3 e 2.5). Mesmo assim, de maneira geral ambos os métodos se mostraram igualmente precisos, alcançando níveis de probabilidade próximos a 49 e 30% para as determinações de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ respectivamente. A aplicação do teste t sobre as médias demonstra a igualdade dos métodos em ambas determinações, de níveis de probabilidade variando entre 82% e 96,2% para $N\text{-}NH_4^+$ e 64,4% e 96,5% para $N\text{-}NO_3^-$ (Tabela 2.5). No total, comprova-se que a aplicação dos métodos colorimétricos adaptados é igual aos métodos padrão de determinação de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ por destilação à vapor ao nível de probabilidade de 94,7% e 93,6% respectivamente.

Tabela 2.5 – Resultado dos testes de comparação da precisão entre os métodos de destilação à vapor e colorimétrico

N min. exógeno	$N\text{-}NH_4^+$				$N\text{-}NO_3^-$			
	$\bar{X}$ D	σ² D	p-F*	p-t	$\bar{X}$ D	σ² D	p-F*	p-t
0,0	2,53	0,04	13,3	93,4	3,32	0,01	25,3	93,6
5,0	7,57	0,01	0,3	93,5	8,33	0,05	5,1	96,5
10,0	12,50	0,15	48,9	82,0	13,22	0,04	21,9	90,0
25,0	27,49	0,12	20,4	83,2	28,62	0,01	1,9	83,9
50,0	52,40	0,27	49,6	96,2	53,55	1,05	29,5	64,4
Total	-	0,37	29,9	94,7	-	1,39	2,6	93,6

$\bar{X}$ *D* = média das determinações por destilação à vapor (mg L^{-1}); *σ² D* = variância entre as determinações por destilação à vapor (mg^2 L^{-2}); *p-F* = probabilidade pelo teste F de Fisher-Snedecor (%); *p-t* = probabilidade pelo teste t de Student (%); * = probabilidade máxima de 50%

2.4 Conclusões

Os métodos colorimétricos podem ser utilizados para determinação de N-NH_4^+ e N-NO_3^- + N-NO_2^- em extratos de solo em substituição ao método da destilação à vapor sem que haja supressão na exatidão e precisão dos resultados. Complementarmente ainda proporciona vantagens, especialmente no que diz respeito ao rendimento. Dependendo da calibração do equipamento, é possível analisar até 96 amostras simultaneamente com tempo de leitura inferior a 5 min.

Entretanto, foram necessárias adaptações em relação ao método original. A principal modificação refere-se à adição de carvão ativado no momento da extração do N mineral com a solução salina para diminuir ruídos oriundos da ação de compostos orgânicos nitrogenados. Neste caso este reagente foi adicionado na relação 0,1 g para cada 5 g de solo, sendo o principal dirigente dos ótimos efeitos sobre os parâmetros de exatidão e precisão.

Os resultados deste estudo permitem sugerir a utilização de solução KCl 2,0 mol L^{-1} para extração do N mineral, além de permitir tempo de reação de 30 min entre a adição dos reagentes e início das leituras. A faixa linear de trabalho mais adequada do espectrofotômetro foi de 0 a 7,5 e 0 a 10,0 mg L^{-1} de N para leituras de N-NH_4^+ e N-NO_3^- respectivamente. Portanto em concentrações superiores a esta faixa sugere-se diluir a amostra para que os resultados sejam mais confiáveis.

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INTERNATIONAL. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, Stanford, 18th ed., 6 p., 2005.

BANWART, W.L.; TABATABAI, M.A.; BREMNER, J.M. Determination of ammonium on soil extracts and water samples by ammonia electrode. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Oxford, v. 3, p. 449-458, 1972

BREMNER, J.M.; KEENEY, D.R. Steam distillation methods for determination of ammonium, nitrate and nitrite. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 32, p. 485-495, 1965.

BREMNER, J.M.; BUNDY, L.G.; AGARWAL, A.S. Use of a selective ion electrode for determination of nitrate in soils. **Analytical Letters**, Oxford, v. 1, p. 837-844, 1968.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; VENEGAS, V.H.A.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. **Fertilidade do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. cap. 7, p. 375-470.

CANTARELLA, H.; PROCHNOW, L.I. Determinação de sulfatos em solos. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade em solos tropicais.** Campinas: Instituto Agronômico, 2001. cap. 14, p. 225-231.

CARDOSO NETO, F.; GUERRA, H.O.C.; CHAVES, L.H.G. Nitrogênio residual em solo adubado com diferentes fontes e intervalos de aplicação de nitrogênio. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, p. 161-168, 2006.

DAVIDSON, J.; MATHIESON, J.; BOYNE, A.W. The use of automation Kjeldahl method, in determining nitrogen with final calculations by computer. **Analyst**, London, v. 95, p. 181-193, 1970.

DIPPOLD, M.; BIRYUKOV, M.; KUZYAKOV, Y. Sorption affects amino acid pathways in soil: Implications from position-specific labeling of alanine. **Soil Biology and Biochemistry***,* Oxford, v. 72, p. 180-192, 2014.

DOMNAS, A. Amide metabolism in yeasts: I. the phenol-hypochlorite method for the estimation of amides and related compounds in uptake studies. **The Journal of Biochemistry**, Oxford, v. 50, p. 46-51, 1961.

DORICH, R.A.; NELSON, D.W. Evaluations of manual cadmium reduction methods for determination of nitrate in potassium chloride extracts of soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 48, p. 72-75, 1984.

FOX, R.L.; HUE, N.V.; PARRA, A.J. A turbidimetric method for determining phosphate-extractable sulfates in tropical soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Oxford, v. 18, p. 343-357, 1987.

HINDS, A.A.; LOWE, L.E. Application of the Berthelot reaction to the determination of ammonium-N in soil extracts and soil digests. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Oxford, v. 5, p. 469-475, 1980.

KEENEY, D.R.; NELSON, D.W. Nitrogen – inorganic forms. In: SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T.; SUMMER, M.E. (Ed.). **Methods of soil analysis.** Madison: Soil Science Society of America, 1996. pt. 3: Chemical methods, chap. 37, p. 1085-1122.

KROM, M.D. Spectrophotometric a determination of ammonia: a study modified Berthelot reaction using salicylate and dichloroisocyanurate. **Analyst**, London, v. 105, p. 305-316, 1980.

KRULL, I.S.; SWARTZ, M. Analytical Method Development and Validation for the Academic Researcher. **Analytical Letters**, Philadelphia, v. 32, p. 1067-1080, 1999.

LUBOCHINSKY, B.; ZALTA, J.P. Microdosage colorimétrique de l'azote ammoniacal. **Bulletin de la Société de Chimie Biologique**, Paris, v. 36, p. 1363-1366, 1954.

MIRANDA, K.M.; ESPEY, M.G.; WINK, D.A. A rapid simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. **Biology and Chemistry**, Amsterdam, v. 5, p. 62-71, 2001.

MULVANEY, R.L. Nitrogen – inorganic forms. In: SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T.; SUMMER, M.E. (Ed.). **Methods of soil analysis.** Madison: Soil Science Society of America, 1996. pt. 3: Chemical methods, chap. 38, p. 1123-1184.

NELSON, D.W. Determination of ammonium in KCl extracts of soils by the salicylate method. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Oxford, v.14, p. 1051-1062, 1983.

NGUYEN, T.H.; CHO, H.; POSTER, D.L.; BALL, W.P. Evidence for a pore-filling mechanism in the adsorption of aromatic hydrocarbons to a natural wood char. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 41, p. 1212-1217, 2007.

PAIVA, D.M.; CANTARUTTI, R.B.; GUIMARÃES, G.G. F.; SILVA, I.R. Urea coated with oxidized charcoal reduces ammonia volatilization. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, p. 1221-1229, 2012.

PIGNATELLO, J.J.; KWON S.; LU, Y. Effect of Natural Organic Substances on the Surface and Adsorptive Properties of Environmental Black Carbon (Char): Attenuation of Surface Activity by Humic and Fulvic Acids. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 40, p. 7757-7763, 2006.

RIVERA-UTRILLA, J.; SÁNCHEZ-POLO, M.; GÓMEZ-SERRANO, V.; ÁLVAREZ, P.M.; ALVIM-FERRAZ, M.C.M.; DIAS, J.M. Activated carbon modifications to enhance its water treatment applications. An overview. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 187, p. 1-23, 2011.

REIS, B.F.; VIEIRA, J.A.; KRUG, F.J.; GINÉ, M.F. Development of a flow injections system two analytical paths for ammonium determination in soil extracts by conductometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 8, p. 523-528, 1997.

SAGHIR, N.S.; MULVANEY, R.L.; AZAM, F. Determination of nitrogen by microdiffusion in Mason jars. I. Inorganic nitrogen in soil extracts. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Oxford, v. 24, p. 1745-1762, 1993.

SEARLE, P.L. The Berthelot or indophenol reaction and its use in the analytical chemistry of nitrogen. **Analyst**, London, v. 109, p. 549-568, 1984.

SEELY, J.H.; PETITELERE, J.C.; BENOITON, L. Interference by protein and amines in the determination of ammonia by the isocyanurate method. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 18, p. 85-86, 1967.

SHINN, M.B. Colorimetric method for determination of nitrite. **Industrial Engineering Chemistry**, Washington, v. 13, p. 33-35, 1941.

SILVA, J. da. **Estudo da eficiência e aplicabilidade de carvão ativado resultante de pirólise de casca de arroz em barreiras reativas na remoção de contaminantes em solos**. 2009. 202 p. Tese (Doutorado em Engenharia) – Escola de Engenharia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

TARAS, M.J. Nitrogen. In: BOLTZ, D.; BLACK, S.; HOLLAND, W.J.; JOHNSON, R.A.; LUECK, C.H.; MEGREGIAN, S.; PATTERSON, G.D.; PORTER, G.; POTTER, G.V.; SCHUBERT, R.C.; SMITH, R.A.; TARAS, M.J.; WRIGHT, E.R.; ZAK, B. (Ed.). **Colorimetric determination of nonmetals**. New York: Interscience, 1958. p. 75-160.

3 EFEITOS DA FERTILIZAÇÃO NITROGENADA CONSECUTIVA NOS ATRIBUTOS QUÍMICOS E MICROBIOLOGICOS DE SOLOS CULTIVADOS COM CANA-DE-AÇÚCAR

Resumo

A aplicação de fertilizantes nitrogenados provoca alterações nas propriedades químicas e biológicas devido sua influência nos processos de transformação do C e N do solo. Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da aplicação consecutiva de fertilizantes nitrogenados, nas formas minerais e orgânica, nos processos de transformação do N do solo, em parâmetros microbiológicos e no estoque de C orgânico e N total a médio prazo. Amostras de solo foram coletadas em dois experimentos instalados em 2010 e 2011 nos quais foi adotado o delineamento estatístico casualizado em blocos com quatro repetições. Os tratamentos aplicados na implantação dos experimentos e reaplicados anualmente foram: T0, controle (sem adubação nitrogenada), FO100, fertilizante orgânico (100 kg ha^{-1} ano^{-1} N), FM100, fertilizante mineral (100 kg ha^{-1} ano^{-1} N) e FM200, fertilizante mineral (200 kg ha^{-1} ano^{-1} N). Em 2014 foram coletadas amostras até 100 cm de profundidade em todos os tratamentos; adicionalmente, também foi coletado solo em mata nativa adjacente (MAN) às áreas experimentais. Nestas amostras foram determinados os estoques de C orgânico (CO), N total (NT) e N mineral (NM). Amostras da camada de 0 a 20 cm foram incubadas em laboratório, avaliando a disponibilidade de N mineral em diferentes tempos de incubação, os teores de C e N da biomassa microbiana e respiração basal. As doses consecutivas de fertilizantes nitrogenados ao longo das safras em ambos os experimentos não afetaram os estoques de CO e NT, assim como a disponibilidade de N e a biomassa microbiana. Entretanto, aumentaram consideravelmente os estoques de NM em camadas mais profundas do solo (> 40 cm). As áreas de mata apresentaram melhores atributos microbiológicos e maior estoque de CO e NT em relação às áreas cultivadas com cana-de-açúcar.

Palavras-chave: Mata nativa; Carbono orgânico; Nitrogênio total; Nitrogênio mineral; Transformação do nitrogênio no solo

Abstract

The application of nitrogen (N) fertilizers affect soil chemical and biological properties through modification of soil C and N processes. This study aimed to evaluate the effect of sequential application of inorganic and organic N fertilizers in soil N transformations, microbiological parameters and soil C and N storage in the mid-term. Soil sampling were collected in two sites installed in 2010 and 2011, in which the complete block experimental design was adopted with four repetitions. Treatments applied in the first year and re-applied annually were T0, control (check-plot), OF100, organic fertilizer (100 kg ha^{-1} $year^{-1}$ N), MF100, mineral fertilizer (100 kg ha^{-1} $year^{-1}$ N), and MF200, mineral fertilizer (200 kg ha^{-1} $year^{-1}$ N). In 2014 soil samples were collected up to 1.0 m in all treatments; additionally, samples were collected in bushland areas close to the trials. In this samples were determined total N (TN), organic (OC) and mineral N (MN) storage. Samples from the 0-0.2 m were incubated in laboratory, assessing availability of mineral N in different incubation

time, microbial biomass C (MBC), microbial biomass N (MBN), and soil respiration. Sequential N fertilization in both sites did not affected TN and OC storage, as well as N availability, MBC and MBN. However, N fertilization increased MN storage deep in the soil profile (> 0.4 m). Native areas showed better microbiological parameters and higher soil OC and TN storage as compared to the sugarcane cultivated areas.

Keywords: Bushland; Organic carbon; Total nitrogen; Mineral nitrogen; Soil nitrogen transformation

3.1 Introdução

Os microrganismos do solo, principalmente bactérias, fungos e actinomicetos, são considerados constituintes da fração lábil de nutrientes como N, P e S. Eles fazem parte da biomassa microbiana, representando a parte ativa do solo e responsável pelos processos de mineralização e imobilização dos nutrientes, sendo, portanto, a porção mais ativa da matéria orgânica do solo (MOS).Todo o fluxo de C e N no solo sofre transformações direta ou indiretamente dentro deste compartimento, que representa cerca de 5% da matéria orgânica (DE-POLLI; GUERRA, 2008). Em solos cultivados com cana-de-açúcar esta representação tem grande variação, a depender do tipo de manejo adotado, teor de argila, e condições climáticas.

A aplicação de fertilizantes provenientes de origem orgânica e mineral, especialmente os nitrogenados, trazem principalmente efeitos indiretos para os organismos do solo em função do menor ou maior tempo de utilização, ligados ao aumento da biomassa vegetal, manutenção dos resíduos entre culturas, aumento dos teores de matéria orgânica, ou diminuição do pH (WARDLE, 1992). Tais efeitos podem ser mensurados através de diversos indicadores que avaliam a biomassa, atividade ou diversidade microbiana (BÜNEMANN et al., 2006). Enquanto a utilização de fertilizantes minerais tem mostrado efeitos variáveis no solo, a aplicação de fertilizantes orgânicos resulta em efeitos positivos a longo prazo (WITTER et al., 1993; LEITA et al., 1999; COLVAN et al., 2001; PARHAM, et al., 2002), ou no mínimo tendem retornar à sua condição inicial com o passar dos anos (SPEIR et al., 2003; GARCIA GIL et al., 2004).

Diferentes formas de N-fertilizante aplicadas ao solo estão sujeitas à distintas transformações ou processos no sistema solo-planta-atmosfera (OLIVEIRA, 2000; VITTI et al., 2007; OTTO et al., 2013). Fontes amídicas estão mais sujeitas a perdas por volatilização, enquanto fontes nítricas podem apresentar maiores perdas por lixiviação (CANTARELLA, 2007). Entretanto, a lixiviação de nitrato em solos tropicais mostrou-se pouco expressiva em solos cultivados com cana-de-açúcar (OLIVEIRA et

al., 2000; GHIBERTO et al., 2009, 2015), assim como as perdas por desnitrificação (SIGNOR et al., 2013). Portanto, os processos de imobilização do N-fertilizante, assim como a alteração da mineralização da MOS, parecem ser os processos mais afetados pela utilização de fertilizantes orgânicos e minerais em sistemas agrícolas.

De maneira geral, como consequência à baixa resposta da fertilização nitrogenada tanto em cana-planta como em cana-soca, o N-fertilizante fica imobilizado inicialmente na biomassa microbiana (VITTI et al., 2007; MARIANO, 2010; MEGDA, 2013; MARIANO, 2015), e posteriormente na MOS, passando para um estado mais recalcitrante. Segundo Vitti (2003), em média 32 % do N-fertilizante (nitrato de amônio) aplicado em cana-soca foi incorporado à MOS.

As mudanças ocorridas no sistema de produção da cana-de-açúcar no Brasil, como colheita mecanizada sem queima, em associação com a utilização de subprodutos da agroindústria e aplicação de fertilizantes nitrogenados, têm alterado a dinâmica da ciclagem de nutrientes na interface atmosfera-palhada-solo (RESENDE et al., 2006; PINHEIRO et al., 2010; SINGH et al., 2011; ROSSI et al., 2013). Ao mesmo tempo que a adição de fertilizantes nitrogenados sintéticos pode favorecer o acúmulo de C no solo devido ao aumento na produção de biomassa e resíduos culturais (RIGGS et al., 2015), o excesso de N pode favorecer o desenvolvimento microbiano e o processo de mineralização do N e C do solo (KAUER et al., 2015). A maioria dos trabalhos realizados com fertilizantes orgânicos tem apresentado efeito favorável destes no aumento do estoque de C e N do solo (SUMAN et al., 2009; LADHA et al., 2011; LIU et al., 2013). Por outro lado, o efeito a longo prazo dos fertilizantes nitrogenados sintéticos no estoque de C e N do solo não são conclusivos (KHAN et al., 2007; MULVANEY et al., 2009; OLSON, 2013; STOCKMANN et al., 2013).

O uso de fertilizantes orgânicos na cultura da cana-de-açúcar está aumentando consideravelmente nos últimos anos, principalmente a partir do uso de resíduos orgânicos provenientes do processo de produção de açúcar, etanol e energia, como torta de filtro, cinzas e vinhaça. Ao mesmo tempo, tem-se observado aumento nas doses de N-fertilizante em sistemas com manutenção da palhada na superfície. Portanto, apesar do efeito de fertilizantes orgânicos e sintéticos já terem sido estudados em sistemas com rotação soja-milho, especialmente em condições de clima temperado, avaliar o efeito destes fertilizantes em condições tropicais com

a cultura da cana-de-açúcar são necessários, visto o interesse global nesta cultura para produção sustentável de biocombustíveis.

Diante disso, formulou-se as seguintes hipóteses: a fertilização nitrogenada orgânica aumenta os estoques de C e N e favorece os atributos microbiológicos do solo em áreas cultivadas com cana-de-açúcar, enquanto a fertilização nitrogenada mineral promove mineralização do C e N do solo e aumenta a disponibilidade de N mineral, principalmente nas maiores doses. Portanto, objetivou-se avaliar os estoques de C orgânico, N total e N mineral no solo, assim como o C e N da biomassa microbiana e a mineralização do N do solo, relacionadas às fontes orgânicas e minerais de N aplicadas sobre a palha consecutivamente há mais de três anos em dois solos cultivados com cana-de-açúcar no Estado de São Paulo.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Experimentação de campo

3.2.1.1 Caracterização das áreas experimentais

Dois experimentos de campo foram conduzidos em diferentes talhões comerciais cultivados com cana-de-açúcar. Ambas as áreas experimentais pertencem à Usina São José da Estiva S/A – Açúcar e Álcool, e situam-se na Fazenda Três Pontes, no município de Novo Horizonte/SP (Figura 3.1).

Figura 3.1 – Localização dos experimentos A e B dentro dos limites territoriais do município de Novo Horizonte/SP

Os experimentos aqui abordados serão denominados de “Experimento A” (EA) e “Experimento B” (EB) (Figura 3.2). Os experimentos estão localizados nas coordenadas geográficas 21° 30' 33,56" S / 49° 18' 49,73" O (EA) e 21° 32' 37,02" S / 49° 19' 27,58" O (EB). O clima da região é do tipo Aw segundo a Classificação Climática de Köppen, denominado tropical úmido, com estiagem no inverno e chuvas intensas no verão. As cultivares escolhidas foram a SP91-1285 e a CTC15, respectivamente plantadas nos talhões referentes aos Experimentos A e B. As principais características das variedades acima são: elevada produtividade, longevidade de soqueira, alta rusticidade e tolerância à seca, ambas apresentando ciclo de maturação médio.

Figura 3.2 – Imagem aérea e posicionamento geográfico dos experimentos A e B e respectivas matas

Os solos das áreas experimentais foram previamente classificados como Latossolo Vermelho-Amarelo de textura média (EA) e Latossolo Vermelho de textura média (EB) (EMBRAPA, 2006). Os resultados das análises químicas e físicas em amostras de solo coletadas na instalação dos experimentos (outubro de 2010 e 2011 respectivamente para EA e EB) seguindo as metodologias descritas em Raij et al. (2001) e Gee e Or (2002) são apresentados na Tabela 3.1.

As análises incluíram: pH em H_2O realizando a leitura em potenciômetro; carbono orgânico (CO), oxidação por dicromato de potássio e determinação por titulometria; fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg), extraídos pela resina trocadora de íons e determinado por espectrofotometria (P), espectrofotometria de chama (K), e espectrofotometria de absorção atômica (Ca e Mg); Al trocável (Al), determinado por titulometria após reação com KCl 1,0 mol L^{-1}; acidez potencial (H+Al), determinada pela leitura do pH em solução SMP; soma de bases (SB), determinada pela soma dos teores de Ca, Mg e K; capacidade de troca catiônica (CTC), determinada pela razão entre SB e H+Al; saturação por bases (V), determinada pela razão entre SB e CTC; saturação por Al (m), determinada pela razão entre Al e a soma da SB com Al; areia (Are), silte (Slt) e argila (Agl), determinadas pelo método do densímetro.

Tabela 3.1 – Características químicas e físicas dos solos dos experimentos A e B

Prof.	pH	CO	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	V	m	Are	Slt	Agl
cm	H_2O	g kg^{-1}	mg kg^{-1}	mmol$_c$ kg^{-1}							%		g kg^{-1}		
Experimento A															
0-20	5,5	7,6	13,0	1,9	11,0	5,0	1,0	17,0	17,9	34,9	52	5	747	51	202
20-40	4,9	7,0	20,0	1,6	6,0	3,0	5,0	19,0	10,6	29,6	37	31	719	29	252
40-60	4,9	5,2	6,0	1,0	5,0	3,0	5,0	16,0	9,0	25,0	34	38	692	30	278
60-80	4,8	4,6	4,0	0,9	3,0	2,0	6,0	12,0	5,9	17,9	33	48	686	37	276
80-100	4,7	2,9	3,0	0,8	3,0	2,0	6,0	13,0	5,8	18,8	29	55	684	38	278
Experimento B															
0-20	5,6	7,0	9,0	2,5	11,0	4,0	1,0	13,0	17,5	30,5	58	5	820	30	150
20-40	5,4	7,0	7,0	1,0	13,0	4,0	1,0	10,0	18,0	28,0	66	5	784	17	200
40-60	5,1	5,2	6,0	0,5	5,0	3,0	3,0	15,0	8,5	23,5	36	25	780	20	200
60-80	4,7	4,1	5,0	0,4	4,0	2,0	6,0	15,0	6,4	21,4	28	49	770	29	201
80-100	4,7	2,9	4,0	0,5	4,0	2,0	4,0	11,0	6,5	17,5	36	42	759	28	213

3.2.1.2 Histórico das áreas

Os solos das áreas experimentais foram corrigidos na implantação dos canaviais com a utilização de corretivos, condicionadores e fertilizantes a fim de evitar deficiências nutricionais e toxicidade de alumínio, favorecendo assim o crescimento radicular e a resposta da cultura à aplicação dos tratamentos. Além disso, ambas as áreas receberam fertilização organomineral através da aplicação de composto orgânico (obtido por meio da compostagem de torta de filtro e cinzas) enriquecido com fosfato natural reativo aplicado em área total (Tabela 3.2). O composto orgânico foi aplicado com cerca de 24% de umidade. As duas áreas possuem histórico de aplicação de vinhaça nos anos anteriores à implantação dos experimentos: 12 e 10 anos para os experimentos A e B respectivamente, ambos com média de 120 m^3 ha^{-1} ano^{-1}. Na área do EA foi cultivado amendoim em sistema "meiosi" anteriormente a instalação do canavial, contribuindo para fixação biológica do N e incorporação de N orgânico ao solo.

Tabela 3.2 – Relação dos produtos (corretivos, condicionadores e fertilizantes) utilizados na implantação dos canaviais referentes aos experimentos A e B

Data	Produto	Operação	Aplicação	Dose	Unidade
		Experimento A			
Nov/2008	Calcário Dolomítico	Calagem	A lanço	2,0	t ha^{-1}
Mar/2009	Cinzas	Aplicação de FOM	A lanço	2,2	t ha^{-1}
Mar/2009	Torta de Filtro	Aplicação de FOM	A lanço	4,5	t ha^{-1}
Mar/2009	Rocha Fosfática	Aplicação de FOM	A lanço	0,5	t ha^{-1}
Mar/2009	Agrolmin®	Adubação de Base	Sulco de Plantio	262,0	L ha^{-1}
Mar/2009	Adubo (03-12-00)	Adubação de Base	Sulco de Plantio	594,7	t ha^{-1}
		Experimento B			
Fev/2009	Calcário Dolomítico	Calagem	A lanço	2,0	t ha^{-1}
Fev/2009	Cinzas	Aplicação de FOM	A lanço	3,8	t ha^{-1}
Fev/2009	Torta de Filtro	Aplicação de FOM	A lanço	4,3	t ha^{-1}
Fev/2009	Rocha Fosfática	Aplicação de FOM	A lanço	0,4	t ha^{-1}
Mar/2009	Agrolmin®	Adubação de Base	Sulco de Plantio	240,9	L ha^{-1}
Mar/2009	Adubo (03-12-00)	Adubação de Base	Sulco de Plantio	574,7	t ha^{-1}

FOM = fertilizante organomineral

A implantação dos canaviais comercias em ambas as áreas ocorreu em março de 2009, contudo a instalação dos experimentos ocorreu posteriormente em safras distintas: em outubro de 2010 para o EA, ou seja, realizada logo após a colheita da cana-planta; e em outubro de 2011 para o EB, ou seja, realizada após a

colheita da primeira soqueira, um ano após a instalação do EA. Sendo assim, considerando-se o tratamento que recebeu a maior dose de N (200 kg ha^{-1} ano^{-1} N), as doses acumuladas são de 800 kg ha^{-1} de N no EA (quatro anos recebendo a adubação nitrogenada) e de 600 kg ha^{-1} de N no EB (três anos recebendo a adubação nitrogenada).

Os tratos culturais em ambos experimentos, como controle de pragas e de plantas daninhas, foram realizados pela equipe agrícola da Usina, adotando-se o mesmo manejo das demais áreas comerciais. As colheitas foram realizadas mecanicamente sempre no mês de agosto, sendo a palha residual distribuída de forma homogênea sobre a superfície do solo.

3.2.1.3 Tratamentos e delineamento experimental

Os experimentos foram instalados no delineamento em blocos casualizados, com quatro tratamentos e quatro repetições, totalizando 16 unidades experimentais por experimento. Adicionalmente foi incluído um tratamento situado na mata nativa adjacente ao experimento a fim de representar as condições originais do solo sob vegetação natural. Os tratamentos foram: T0, controle – sem aplicação de fertilizante nitrogenado; FO100, fertilizante orgânico – 100 kg ha^{-1} ano^{-1} de N; FM100, fertilizante mineral – 100 kg ha^{-1} ano^{-1}; FM200, fertilizante mineral – 200 kg ha^{-1} ano^{-1}; e MAN, mata nativa. Os tratamentos dentro dos experimentos foram reaplicados respectivamente nas mesmas unidades experimentais desde a instalação dos experimentos, e repetidos até a colheita da última soqueira de cana-de-açúcar em agosto de 2015.

Cada unidade experimental foi composta de oito linhas de cana-de-açúcar com 15 m de comprimento e espaçamento de 1,5 m, totalizando 180 m² por parcela, deixando-se 2 m de bordadura entre as parcelas.

3.2.1.4 Aplicação dos tratamentos

Todos os níveis dos tratamentos foram aplicados sobre a palha residual ao lado da linha da soqueira, a uma distância aproximada de 20 cm do centro da linha de cana-de-açúcar, sempre no sentido contrário da declividade (Figura 3.3). A aplicação foi manual e aplicada de uma única vez até o final dos 15 m de cada linha

para melhor uniformidade. Os tratamentos foram aplicados cerca de 60 dias após a colheita de cada soqueira. Além do N nas diferentes fontes e doses, também foi aplicado potássio e fósforo em todos os tratamentos, na dose de 85 kg ha^{-1} K_2O e 35 kg ha^{-1} P_2O_5, seguindo a recomendação oficial de adubação (SPIRONELLO et al., 1997).

A fonte de fertilizante nitrogenado mineral YaraBella™ Nitromag™ (Nitromag) apresenta uma combinação de nitrogênio nítrico e amoniacal (total de 27% de N), além de cálcio (4% Ca) e magnésio (2% Mg) na forma de dolomita, apresentando comportamento no solo muito semelhante ao do nitrato de amônio.

A fonte de fertilizante nitrogenado orgânico foi o composto orgânico, produzido na própria Usina a partir da compostagem de subprodutos agroindustriais como torta de filtro, cinza de caldeira e outros materiais complementares, como fosfato natural reativo. Todos os anos foi realizada análise química do fertilizante orgânico para garantir que a dose de N aplicada anualmente estivesse próxima a 100 kg ha^{-1}. Os resultados das análises revelaram, na média dos quatro anos, os seguintes valores: pH em $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1} = 8,2 (base úmida - BU); densidade = 0,7 g cm^{-3} (BU); umidade total = 28,4% (BU); C orgânico = 10,7% (base seca 110 °C - BS); N total = 1,3% (BS); P total = 1% (BS); K total = 1,1% (BS); Ca total = 3,0% (BS); Mg total = 0,5% (BS); e S total = 0,8% (BS). Considerando o teor de N total e descontando a umidade do composto, a dose do produto aplicada todos os anos variou de 8 a 9 Mg ha^{-1} de fertilizante orgânico (BU).

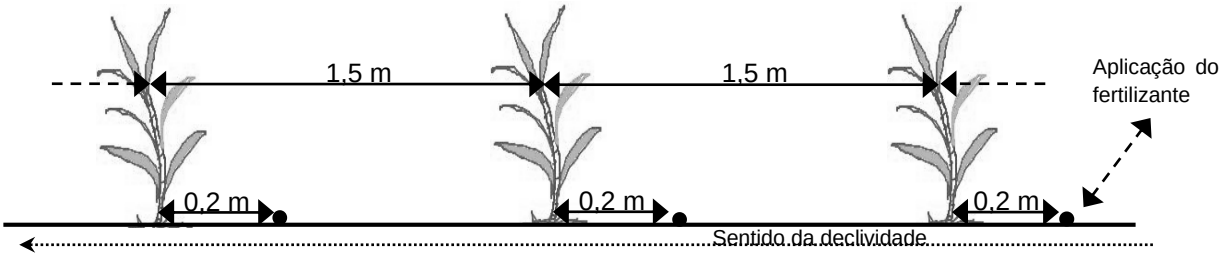

Figura 3.3 – Esquema do espaçamento entre linhas e local de aplicação dos fertilizantes

3.2.1.5 Amostragem do solo

Com um trado holandês foram coletadas quatro subamostras para composição de uma amostra representativa de cada camada (0-20, 20-40, 40-60, 60-80 e 80-100 cm) nos tratamentos T0, FO100, FM100 e FM200 em ambos experimentos. A amostragem foi realizada nos dias 12 e 13 de abril de 2014. Também foram amostrados, nas mesmas camadas, o solo das matas nativas

próximas aos experimentos, pois representam as condições originais do ecossistema da região. Assim, neste capítulo do trabalho, foram utilizados cinco tratamentos com quatro repetições cada, totalizando 20 unidades experimentais amostradas.

As subamostras foram coletadas dentro da área útil da parcela (linhas 3, 4, 5 e 6) sendo que para cada uma dessas linhas, variou-se a distância da coleta em relação à linha (0, 25, 50 e 75 cm da linha) a fim de representar melhor o solo da unidade experimental, principalmente devido às avaliações de estoque de C e N. Subamostras da mata nativa próxima aos experimentos foram coletadas de forma aleatória, situadas dentro de um raio de aproximadamente 15 m.

Antes do procedimento da amostragem foi retirada a palhada superficial, e durante o procedimento o volume de solo contido na ponteira da caçamba do trado holandês e nas suas laterais era descartado cuidadosamente para não haver contaminação entre as profundidades. Todo o solo coletado das subamostras de cada parcela foi transferido para baldes devidamente identificados com suas respectivas profundidades, seguida de homogeneização e retirada de duas porções distintas de solo

As amostras foram armazenadas em sacos de polietileno previamente identificados; estes então foram lacrados, sendo que os primeiros (P1) foram mantidos em temperatura ambiente com posterior secagem ao ar, enquanto os demais (P2) foram acondicionados em isopor contendo gelo onde permaneceram refrigeradas durante a permanência no campo, para redução da atividade microbiana. As amostras P2 foram mantidas em congelador durante os dias de coleta, sendo armazenadas em isopor contendo gelo durante seu transporte até o laboratório, de forma a permanecerem congeladas. Nas amostras P1 foram determinados os teores de C orgânico e N total, e nas amostras P2 os teores de N mineral ($N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ + $N\text{-}NO_2^-$).

Foi recolhida uma terceira porção de solo apenas para camada de 0-20 cm (P3), as quais foram armazenadas em sacos de polietileno previamente identificados. Os sacos foram mantidos abertos sob temperatura controlada (isopor com gelo e refrigerador à 4 °C) durante praticamente todo tempo, permitindo a troca de gases entre a amostra e o ambiente, e ao mesmo tempo reduzindo a atividade microbiana. Nestas amostras foram avaliadas a atividade microbiana e a biomassa

microbiana de C e N no solo, além da disponibilidade de N mineral realizada por meio de ensaio de incubação de curta duração (28 dias).

Com um trado de amostra indeformada (contendo anel volumétrico acoplado) foram coletadas seis amostras representativas de cada profundidade (0-20, 20-40, 40-60, 60-80 e 80-100 cm) em cada experimento e nas suas respectivas matas nativa (P4). Foi utilizado um trado de caneca para perfurar o solo até a profundidade desejada, sendo então utilizado o trado de amostra indeformada com o anel volumétrico em seu interior. As amostras foram talhadas em campo e em seguida envolvidas por filme plástico e depois por papel alumínio até a chegada ao laboratório, onde foram armazenadas em local seco e arejado. Estas foram utilizadas para determinação da densidade aparente do solo (Ds), sendo obtida após secagem das amostras em estufa (105ºC durante 24 h) e medição do volume de cada anel volumétrico (obtido pela medição da altura e diâmetro em três posições), obtendo-se os resultados em g cm^{-3}. Estes resultados foram utilizados para calcular os estoques de C orgânico e N total no solo.

3.2.2 Análises laboratoriais

3.2.2.1 Carbono orgânico

O carbono orgânico (CO) foi analisado nas amostras P1, em triplicata, pelo método da digestão em tubo segundo Nelson e Sommers (1996), que consiste basicamente na oxidação do CO das amostras de solo (1,0 g de solo seco em tubos de digestão) através de uma solução de dicromato de potássio (5,0 mL de $K_2Cr_2O_7$ 0,167 mol L^{-1}) e ácido sulfúrico concentrado (7,5 mL de H_2SO_4 18,0 mol L^{-1}) em bloco digestor a 150 °C por 30 min, e determinação do excesso de dicromato de potássio por titulometria com solução de sulfato ferroso amoniacal ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ 0,2 mol L^{-1}). O cálculo do teor de CO foi obtido pela Equação 3.1:

$$CO = \frac{\left\{\left[(Vb-Va)\times\left(\frac{Vc-Vb}{Vc}\right)\right]+(Vb-Va)\right\}\times CFe\times\left(\frac{mC}{EC}\right)}{Ma} \qquad (3.1)$$

Onde: *CO* = carbono orgânico (mg g^{-1}); *Va* = volume de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da amostra de solo (mL); *Vb* = volume de sulfato ferroso

amoniacal gasto na titulação da amostra em branco aquecida (mL); *Vc* = volume de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da amostra em branco não aquecida (mL); *CFe* = concentração de íons Fe^{2+} na solução de sulfato ferroso amoniacal (mol/L); *mC* = massa molar do carbono (g/mol); *EC* = quantidade de 1,5 mol de C equivalente à 6,0 mol de Fe^{2+} (4); *Ma* = massa de solo seco da amostra (g).

Os teores de CO (mg C g^{-1} solo seco) foram multiplicados pela densidade do solo (Ds) e sua respectiva camada para conversão em estoque de CO, sendo expressos em Mg ha^{-1} C.

3.2.2.2 Nitrogênio total

O nitrogênio total (NT) foi analisado também nas amostras P1, em triplicata, pelo método de Kjeldahl segundo Bremner (1996), que consiste basicamente no tratamento prévio das amostras de solo (1,0 g de solo seco em tubos de digestão) com uma solução de permanganato de potássio (1,0 mL de $KMnO_4$ 5% (m/m)), ácido sulfúrico (2,0 mL de H_2SO_4 9,0 mol L^{-1}) e ferro reduzido em pó (0,50 ± 0,01 g de Fe^0) sob aquecimento brando em bloco digestor (90 °C por 45 min) para redução do N-NO_3^- à N-NH_4^+, e posterior digestão ácida com mistura catalítica (1,1 g da mistura de K_2SO_4 + $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ + Se^0 na proporção 100:10:1 em massa) e ácido sulfúrico concentrado (3,0 mL de H_2SO_4 18,0 mol L^{-1}) para converter o N orgânico à forma amoniacal (N-NH_4^+). Os extratos gerados após sete horas de digestão sob elevada temperatura (duas horas à 250 °C seguida de cinco horas à 350 °C) foram resfriados em temperatura ambiente, e transferidos para tubos de centrífuga de 50 mL com auxílio de agitador, completando o volume com água deionizada. O teor de N-NH_4^+ nos extratos foi quantificado pelo método colorimétrico segundo Baethgen e Alley (1989), que consiste basicamente em quantificar a intensidade da cor emitida pelo composto azul de indofenol, gerado através da reação do N-NH_4^+ com hipoclorito de sódio e salicilato de sódio.

Os teores de NT (mg N g^{-1} solo seco) foram multiplicados pela densidade do solo (Ds) e sua respectiva camada para conversão em estoque de NT, sendo expressos em Mg ha^{-1} N.

3.2.2.3 Nitrogênio mineral

Para extração do nitrogênio mineral (NM) do solo as amostras de solo (P2) foram descongeladas em temperatura ambiente com antecedência de 12 h. Cada amostra foi então pesada em triplicata (5,00 ± 0,05 g) em balança digital, transferindo o solo para tubos de centrifugação de 50 mL, sendo posteriormente acrescentado aproximadamente 0,12 g de carvão ativado. Em seguida foi adicionado 25 mL de KCl 2,0 mol L^{-1} com auxílio de dispensador previamente calibrado, e então colocados sob agitação a 180 rpm em mesa agitadora horizontal durante uma hora. Após este período, as amostras foram filtradas em papel de filtro n° 42 (Nalgon Ref. 3552), previamente lixiviado com solução KCl 2,0 mol L^{-1} a fim de remover possíveis quantidades de $N\text{-}NH_4^+$ no papel (MULVANEY, 1996). Passadas três horas os extratos foram recolhidos e armazenados em tubos de centrifugação de 50 mL, sendo os mesmos acondicionados em congelador até a determinação dos teores de NM. Nos extratos, os teores de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_2^-$ + $N\text{-}NO_3^-$ foram determinados pelo método colorimétrico (espectrofotometria), em triplicata, segundo Mulvaney (1996) e Miranda et al. (2001) respectivamente, conforme descrito detalhadamente no capítulo 2.

Os teores de NM (mg N kg^{-1} solo seco) foram multiplicados pela densidade do solo (Ds) e sua respectiva camada para conversão em estoque de NM, sendo expressos kg ha^{-1} N.

3.2.2.5 Avaliação temporal na disponibilidade de nitrogênio mineral do solo

Amostras P3 (camada 0-20 cm) foram utilizadas para execução de um ensaio de incubação em condições de laboratório para estimar a disponibilidade de N mineral do solo no tempo (DNMT) influenciados pelos tratamentos aplicados nos anos anteriores. Foi utilizado o método de estimativa da taxa líquida de transformação do N do solo, utilizando uma adaptação a metodologia descrita por Hart et al. (1994).

Imediatamente após a chegada ao laboratório, determinou-se a umidade gravimétrica aparente das amostras de solos, pesando cerca de 75 g de solo úmido e deixando-o na estufa a 105 °C por 24 horas; após esfriarem, foi obtida a massa em

balança semi-analítica (precisão de 0,01 g), obtendo-se a umidade do solo (g g^{-1} solo seco).

Nessas mesmas amostras de solo seco determinou-se a capacidade de retenção de água (CRA), que consistiu simplesmente em transferir 50 g da amostra de solo seco dentro de um funil plástico contendo papel de filtro quantitativo faixa azul de filtragem lenta (Quanty JP42), previamente molhado com água deionizada, com posterior adição de 50 mL de água deionizada, deixando filtrar sobre uma proveta graduada por três horas. A diferença entre o volume de água adicionado (50 mL) e o volume contido na proveta indica o volume de água retido no solo. A CRA então foi determinada pela razão entre o volume de água retido no solo e a massa de 50 g de solo seco.

Para a incubação, transferiu-se a massa de solo úmido equivalente à 10 g de solo seco para frascos de vidro com capacidade de 100 mL. Previamente foi registrada a massa de cada frasco. Foram estipulados os tempos de incubação de 0, 14 e 28 dias. As amostras do tempo 0 foram extraídas com 50 mL de solução 2,0 mol L^{-1} de KCl imediatamente após colocar as amostras nos frascos. Às outras amostras foi adicionada água deionizada até atingir 40% da CRA, sendo transferidas para câmara incubadora do tipo BOD (Tecnal, modelo TE-371) e mantidas durante o período estipulado (14 e 28 dias) à temperatura de 25 °C.

Diariamente foi realizada pesagem dos frascos e, sempre que necessário, foi realizada reposição de água para manter a mesma umidade em todas as amostras. Após receberem 50 mL de solução 2,0 mol L^{-1} KCl, as amostras dos tempos 0, 14 e 28 dias foram agitadas durante uma hora, sendo posteriormente filtradas em papel de filtro quantitativo. Nos extratos, os teores de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_2^-$ + $N\text{-}NO_3^-$ foram determinados por espectrofotometria segundo Mulvaney (1996) e Miranda et al. (2001), respectivamente, em triplicata, e os resultados expressos mg N kg^{-1} de solo seco.

3.2.2.6 Atividade microbiana

A respiração do solo é o método mais comum para determinação da atividade microbiana (AM). Para determinação da respiração basal foi adotado o protocolo descrito por Alef (1995), que consiste em quantificar o CO_2 emitido pelos microrganismos presentes na amostra de solo.

Ao chegar no laboratório as amostras P3 de solo da camada 0-20 cm, ainda com a umidade de campo preservada, foram passadas em peneira de malha de 2,0 mm. Amostras de 100 g de solo úmido foram transferidas para frascos de vidro (capacidade de 500 mL) vedadas hermeticamente. O teor de umidade das amostras de solo foi corrigido para 40% da CRA com água deionizada. Para que o CO_2 proveniente da mineralização do material orgânico presente no solo fosse capturado, colocou-se um frasco plástico de 50 mL contendo 11 mL de uma solução 0,5 mol L^{-1} de NaOH, em cada frasco de vidro, fechando-os hermeticamente com auxílio de filme PVC sob a tampa. Os frascos foram então incubados a 25 °C por 48 h. Passado o período de incubação, os frascos foram abertos, sendo adicionados 1,0 mL de solução de $BaCl_2$ a 50% para precipitação de $BaCO_3$ e adição de duas gotas do indicador fenolftaleína a 1%, sendo em seguida titulado com solução 0,5 mol L^{-1} de HCl até o desaparecimento da cor rósea. O volume gasto na titulação foi lançado na Equação (3.2) para quantificação do CO_2 emitido.

$$R = 22 \times \{[(M1 \times V1) - (M2 \times V2)] - [(M1 \times V1) - (M2 \times V3)]\} \qquad (3.2)$$

Onde: *R* = quantidade de CO_2 emitida em 100 g de solo úmido (mg CO_2 100 g^{-1} solo); *M1* = molaridade do NaOH (mol L^{-1}); *V1* = volume de NaOH utilizado em cada frasco (mL); *M2* = molaridade do HCl (mol L^{-1}); *V2* = volume de HCl gasto na titulação da amostra (mL); *V3* = volume de HCl gasto na titulação do branco (mL); *22* = fator da quantidade de NaOH que reage com CO_2 em equivalente.

O procedimento de incubação com solução de NaOH e titulação com HCl foi repetido 15 vezes, totalizando 48 d de incubação ininterruptas, com intervalos de leituras crescentes de 2 a 7 dias no início e no fim do ensaio, respectivamente. Considerando a umidade do solo no início da incubação, calculou-se a quantidade de C-CO_2 emitida por g de solo seco por hora (Equação 3.3). Esses valores foram somados para se obter o total de CO_2 emitido ao longo do período de incubação.

$$R' = \frac{R \times Ps \times 1000 \times \left(\frac{mC}{mCO_2}\right)}{d \times h} \qquad (3.3)$$

Onde: *R'* = quantidade de C-CO_2 emitido por g de solo seco por hora (mg kg^{-1} h^{-1}); *R* = quantidade de CO_2 emitido em 100 g de solo úmido (mg 100 g^{-1}); *Ps* = peso de

solo seco (g); *1000* = transformação de g para kg de solo; *mC* = massa molar do carbono; mCO_2 = massa molar do CO_2; *d* = dias de incubação; *h* = horas dia^{-1};

3.2.2.7 Carbono da biomassa microbiana

As análises de biomassa microbiana foram efetuadas por meio da metodologia de fumigação-extração descrita originalmente por Vance et al. (1987) que consiste basicamente em comparar amostras fumigadas com clorofórmio e amostras controle (não fumigadas). Para isso, 10 g de cada amostra de solo da camada de 0-20 cm foram pesados em duplicata e transferidos para frascos de vidro com volume de 50 mL. Uma replicata de cada amostra foi alocada em dessecador com papel de filtro umedecido com água, contendo no seu centro um béquer com 25 mL de clorofórmio livre de etanol. Com auxílio de uma bomba hidráulica todo o ar do dessecador foi evacuado, deixando as amostras apenas sob ação do clorofórmio durante 24 horas à 25 °C. As demais replicatas das amostras foram deixadas no mesmo ambiente durante o mesmo tempo, porém, fora do dessecador. Passado o período de fumigação, o clorofórmio foi evacuado (três vezes) e à todas as replicatas (fumigadas e não fumigadas) adicionou-se 40 mL de solução 0,5 mol L^{-1} de K_2SO_4, sendo posteriormente agitadas por 30 min a 180 rpm em mesa agitadora horizontal. Em seguida a solução extratora foi filtrada em papel de filtro n° 42 (Nalgon Ref. 3552), e o extrato utilizado para determinação do C e N da biomassa microbiana

A análise do carbono da biomassa microbiana (CBM) foi feita pelo método da digestão em tubo segundo Frighetto (2000). A metodologia consiste basicamente na oxidação do C orgânico das amostras em mistura de H_2SO_4 + H_3PO_4 (2:1), adicionando solução de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) 0,0667 mol L^{-1} em banho maria (100 °C) por 30 min, e determinação por titulometria com solução de 0,0333 mol L^{-1} de sulfato ferroso amoniacal [$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$]. O volume do ácido gasto na titulação foi lançado na Equação 3.4 para quantificação do CBM.

$$CBM = \frac{(Vb - Va) \times r \times 1200 \times 5}{M \times Kc} \quad (3.4)$$

Onde: *CBM* = carbono da biomassa microbiana (mg C kg^{-1} solo seco); *Vb* = volume de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação do branco (mL); *Va* = volume de

sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da amostra (mL); *r* = fator (razão entre o volume de dicromato de potássio e o volume de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação do branco); *1200* = µg de C oxidado por mL de dicromato de potássio; *5* = referente às 10 g de solo úmido; *M* = massa do solo seco (g); *Kc* = fator de recuperação da BMC (0,4).

A diferença entre a quantidade de C em amostras fumigadas e não fumigadas indica o conteúdo do nutriente imobilizado na biomassa microbiana.

3.2.2.8 Nitrogênio da biomassa microbiana

A determinação do nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) foi realizada a partir dos mesmos extratos obtidos para determinação do CBM, seguindo a metodologia de Joergensen e Brookes (1990), que consiste em adicionar ninhidrina reativa ao extrato. A ninhidrina reage com o grupamento alfa-amino dos aminoácidos, proteínas, peptídeos e outros compostos, acarretando a descarboxilação e desaminação destes. Como produtos da reação, haverá formação de H_2O, CO_2, aldeído, e um complexo de coloração púrpura que foi determinado por colorimetria através da medição da sua absorbância (Equação 3.5).

$$NBM = [(a \times A) + b] \times (\frac{Ve}{(Kc \times 1000)}) \times (\frac{Ms}{Mu}) \quad (3.5)$$

Onde: NBM = N da biomassa microbiana (mg N kg^{-1} solo seco); *a* = coeficiente angular da curva padrão; *A* = leitura do equipamento (absorbância); *b* = coeficiente linear da curva padrão; *Ve* = volume total do extrato de K_2SO_4 0,5 mol L^{-1} (mL); *Kc* = fator de recuperação do NBM (0,54); *1000* = transformação de L para mL; *Ms* = massa do solo seco (g); *Mu* = massa do solo úmido (g).

A diferença entre a quantidade de N em amostras fumigadas e não fumigadas indica o conteúdo do nutriente imobilizado na biomassa microbiana.

3.2.2.9 Coeficiente metabólico

O coeficiente metabólico (qCO_2) é utilizado como medida para inferir sobre as alterações na biomassa microbiana em resposta a perturbações externas, seja esta

de qualquer natureza. Sua determinação seguiu a metodologia de Anderson e Domsch (1985), na qual consiste simplesmente na razão entre a atividade microbiana, em mg C-CO_2 kg^{-1} h^{-1} solo seco, e o carbono da biomassa microbiana, em mg CBM kg^{-1} solo. Os resultados do coeficiente metabólico estão expressos em g C-CO_2 g^{-1} CBM h^{-1}.

3.2.2.10 Fração do carbono da biomassa microbiana no carbono orgânico

Este coeficiente é utilizado para verificar a fração do carbono orgânico que é constituído pelo carbono da biomassa microbiana (CBM/C). Sua determinação se baseia na simples razão entre o CBM e o C, com resultados expressos em %.

3.2.2.11 Fração do nitrogênio da biomassa microbiana no nitrogênio total

Este coeficiente é utilizado para verificar a fração do nitrogênio total que é constituído pelo nitrogênio da biomassa microbiana (NBM/N). Sua determinação se baseia na simples razão entre o NBM e o N, com resultados expressos em %.

3.2.2.12 Análise estatística

Os fatores de variação (adubação nitrogenada e tempo de incubação) foram considerados como efeito fixo no modelo estatístico adotado, sendo submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando-se o teste F, e posteriormente ao teste de Tukey para causas de variação significativa. Ambos os testes estatísticos foram realizados com $P \leq 0,100$.

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Atributos microbiológicos

Tanto no EA como no EB observou-se maior quantidade de N mineral, CBM e NBM na mata nativa em relação aos tratamentos sob sistema agrícola (Tabela 3.3), provavelmente por apresentar melhor qualidade da matéria orgânica neste solo (GAMA-RODRIGUES; GAMA-RODRIGUES, 2008). Este resultado pode ser

atribuído à maior biodiversidade da mata nativa quando comparada com sistemas agrícolas, constatada também por Graham et al. (2002), Souza et al. (2006), Gama-Rodrigues et al. (2008) e Silva et al. (2010). Os valores de CBM e NBM deste estudo foram próximos daqueles compilados por Dalal (1998).

Sendo o compartimento mais ativo da MOS e muito sensível às alterações no manejo, o CBM do EA mostrou efeito dos tratamentos sob sistema agrícola em relação àquele sob mata nativa. Entretanto esse efeito não se repetiu para os resultados obtidos nos estoques de C orgânico na mesma camada (0-20 cm) (vide item 3.3.3), pois se por um lado a mata nativa manteve o aporte de C no solo através da ciclagem de nutrientes (SRIVASTAVA et al., 2015), por outro lado o sistema agrícola o manteve por meio da deposição de raízes e de palhada (GALDOS et al., 2009; LA SCALA JÚNIOR et al., 2012). Além disso, manteve-se a relação CBM/C próxima à 5% citada por De-Polli e Guerra (2008).

As aplicações de composto orgânico e de fertilizante mineral na dose de 100 kg ha^{-1} no EA foram capazes de elevar o NBM quando comparados com o controle e com a dose de 200 kg ha^{-1} de N. Ou seja, doses intermediárias de N favoreceram o NBM, enquanto dose mais elevadas de N reduziram o NBM. Ladha et al. (2011) observaram que fertilizantes orgânicos foram capazes de aumentar o estoque de C e N em solos cultivados, enquanto outros autores também observaram diminuição do estoque de C (KHAN et al., 2007) e N do solo (MULVANEY et al., 2009) promovidos por altas doses de fertilizantes nitrogenados sintéticos. Os autores associaram esta diminuição ao aumento da mineralização do N orgânico do solo pelo excesso de N mineral fornecido.

Nos dois experimentos a relação C/N da biomassa microbiana foi maior no controle em relação aos demais tratamentos (Tabela 3.3). Este resultado pode ser reflexo da ausência de fertilização nitrogenada, causando diminuição do N mineral no solo devido à extração pela cana-de-açúcar ao longo das três safras anteriores. Isso é mais evidente se observarmos que os tratamentos que receberam aporte de N mantiveram relação C/N estável e semelhante àquela encontrada no solo sob mata, no qual a ciclagem de nutrientes é o fator responsável por manter o equilíbrio dos ciclos biogeoquímicos do C e do N (SRIVASTAVA et al., 2015).

A esperada tendência do menor coeficiente metabólico para a mata nativa, conforme reportado em outros trabalhos (GAMA-RODRIGUES et al., 2008; SILVA et al., 2010), não foi comprovada no presente estudo. Especula-se que este resultado

se deve à elevada respiração basal quando relacionada com o baixo CBM, logo, esta pode estar sendo mineralizada, agindo como fonte de nutrientes, uma vez que além de um compartimento da matéria orgânica do solo, é também o mais ativo.

Com relação à AM do EA, não houve diferença estatística entre os tratamentos tanto para a emissão acumulada de CO_2 quanto para a média diária (Tabela 3.3), refletindo da mesma forma no coeficiente metabólico, ou seja, mesmo com maior CBM na mata, sua elevada emissão de CO_2 fez com que se equilibrasse o qCO_2 entre todos os demais tratamentos. Resultados semelhantes foram observados por Dominy et al. (2002) em áreas cultivadas com cana-de-açúcar.

Tabela 3.3 – Atributos microbiológicos na camada de 0-20 cm em função das fontes de N e da mata nativa em ambos experimentos

Trat.	N min	CBM	NBM	C/N	$\sum CO_2$	$\bar{X}CO_2$	qCO_2	CBM/C	NBM/N
	mg kg^{-1}			-	mg kg^{-1}	mg kg^{-1} h^{-1}	g g^{-1} h^{-1} × 10^{-4}	%	
					Experimento A				
T0	5,7 ^{b}	408,5 ^{b}	10,0 ^{b}	41,7 ^{a}	104,6	0,09	2,2	5,9	1,3 ^{c}
FO100	6,3 ^{ab}	381,2 ^{b}	17,1 ^{a}	22,4 ^{b}	113,4	0,10	2,6	4,8	2,2 ^{ab}
FM100	7,4 ^{ab}	424,7 ^{b}	18,6 ^{a}	22,8 ^{b}	139,6	0,12	2,9	5,2	2,5 ^{a}
FM200	8,3 ^{ab}	364,7 ^{b}	12,4 ^{b}	29,6 ^{b}	112,3	0,10	2,7	4,7	1,5 ^{bc}
MAN	9,4 ^{a}	508,7 ^{a}	17,0 ^{a}	30,3 ^{b}	172,0	0,15	2,9	5,9	2,0 ^{abc}
P <	0,09*	0,01*	0,01*	0,01*	0,11	0,12	0,59	0,22	0,02*
CV	24,7	8,8	9,6	14,8	27,8	28,4	23,2	12,5	25,9
DMS	3,6	72,2	2,8	8,5	69,9	0,06	1,2	1,3	1,0
					Experimento B				
T0	5,9 ^{b}	343,9 ^{b}	7,2 ^{d}	48,3 ^{a}	176,1 ^{b}	0,15 ^{b}	4,6 ^{b}	5,9 ^{ab}	1,3 ^{d}
FO100	7,3 ^{b}	390,0 ^{b}	15,6 ^{b}	25,2 ^{bc}	154,8 ^{b}	0,13 ^{b}	3,5 ^{b}	7,3 ^{a}	2,9 ^{bc}
FM100	6,7 ^{b}	368,4 ^{b}	14,1 ^{bc}	26,4 ^{bc}	195,7 ^{b}	0,17 ^{b}	4,6 ^{b}	6,2 ^{ab}	3,8 ^{ab}
FM200	6,7 ^{b}	319,8 ^{b}	9,5 ^{cd}	37,2 ^{ab}	170,3 ^{b}	0,15 ^{b}	4,6 ^{b}	5,3 ^{bc}	1,9 ^{cd}
MAN	10,3 ^{a}	480,0 ^{a}	35,0 ^{a}	13,8 ^{c}	385,2 ^{a}	0,33 ^{a}	6,9 ^{a}	3,9 ^{c}	4,5 ^{a}
P ≤	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*
CV	14,6	9,7	16,5	29,5	22,7	23	20,7	13	27,2
DMS	2,1	72,0	5,3	17,4	96,2	0,08	2,0	1,5	1,5

N min = nitrogênio mineral ($N\text{-}NH_4^+$ + $N\text{-}NO_2^-$ + $N\text{-}NO_3^-$); *CBM* = carbono da biomassa microbiana ; *NBM* = nitrogênio da biomassa microbiana ; *C/N* = relação C/N da biomassa microbiana; $\sum CO_2$ = acúmulo de $C\text{-}CO_2$ emitido no período de 48 dias de incubação; $\bar{X}CO_2$ = média de $C\text{-}CO_2$ emitido no período de 48 dias de incubação; qCO_2 = coeficiente metabólico; *CBM/C* = razão entre o CBM e o C orgânico; *NBM/N* = razão entre NBM e o N total; *CV* = coeficiente de variação (%); *DMS* = diferença mínima significativa para o teste de Tukey (α = 0,1); * = efeito significativo dos tratamentos com *P* ≤ 0,1 para o teste de Tukey

3.3.2 Avaliação temporal na disponibilidade de nitrogênio mineral do solo

Não houve efeito dos tratamentos na disponibilidade de N mineral no solo do EA em nenhum dos tempos de extração (Tabela 3.4). Por outro lado, no EB, a mata nativa apresentou maior teor de N mineral aos 14 d de incubação; aos 28 d tanto a mata quanto o tratamento FM200 apresentaram maiores teores quando comparado aos demais tratamentos. Na média dos 28 d de incubação no EB, a sequência dos teores de N mineral foi MAN > FM200 > T0 > FM100 = FO100. O trabalho de Mulvaney et al. (2009) apresentou diversos estudos nos quais a adição de fertilizantes minerais promoveu aumentos da mineralização líquida de N em solos, assim como também observado na área do EB e nos estudos conduzidos por Megda et al. (2013).

Tabela 3.4 – Disponibilidade de N mineral após os períodos de incubação para os tratamentos de ambos experimentos

Tratamento	NM 0	NM 14	NM 28	Média	NM 0	NM 14	NM 28	Média
	mg kg^{-1}				mg kg^{-1}			
	Experimento A				Experimento B			
T0	5,7 ^{B}	14,8 ^{A}	16,2 ^{A}	12,2	5,9 ^{B}	12,2 ^{Ab}	18,4 ^{Ab}	12,9 ^{bc}
FO100	6,3 ^{B}	12,5 ^{AB}	15,8 ^{A}	11,5	7,3 ^{A}	11,9 ^{Ab}	14,6 ^{Ab}	11,3 ^{c}
FM100	7,4 ^{B}	10,8 ^{AB}	17,2 ^{A}	11,8	6,7 ^{A}	11,2 ^{Ab}	13,5 ^{Ab}	10,5 ^{c}
FM200	8,3 ^{B}	11,7 ^{AB}	17,0 ^{A}	12,3	6,7 ^{B}	11,6 ^{Bb}	34,2 ^{Aa}	17,5 ^{ab}
MAN	9,4 ^{B}	16,2 ^{A}	22,6 ^{A}	16,1	10,3 ^{C}	19,2 ^{Ba}	27,6 ^{Aa}	19,0 ^{a}
Média	7,4 ^{C}	13,2 ^{B}	17,8 ^{A}	—	7,38 ^{C}	13,6 ^{B}	21,7 ^{A}	—
P_{trat} ≤	0,11				< 0,01*			
P_{tempo} ≤	< 0,01*				< 0,01*			
$P_{tratxtempo}$ ≤	0,89				0,01*			
CV	35,6				35,7			

NM = disponibilidade de nitrogênio mineral após o período de incubação especificado; *CV* = coeficiente de variação (%); * = efeito significativo dos tratamentos com *P* ≤ 0,1 para o teste de Tukey

Os maiores teores de N mineral na mata nativa no EB podem estar associados aos maiores valores de CBM e NBM neste solo comparado aos demais tratamentos (Tabela 3.3), assim como a maior emissão de CO_2 durante a incubação (Tabela 3.5), consequência da mineralização de substratos orgânicos lábeis na MAN. O mesmo resultado foi encontrado por Silva et al. (2010) ao estudar diferentes tipos de manejo de um solo de cerrado. Frazão et al. (2010) também observaram resultados semelhantes avaliando os atributos microbiológicos de um Neossolo sob diferentes usos da terra. A ausência de diferença entre os tratamentos no teor de N

mineral observada no EA pode estar relacionada às considerações de Bünemann et al. (2006), ao explicar que outros fatores como a matéria orgânica, anos de cultivo e manejo dos resíduos sob o solo afetam diretamente a microbiologia do solo com um peso maior do que a própria fertilização.

Tabela 3.5 – Emissão acumulada de C-CO_2 nos períodos de incubação e suas respectivas médias para os tratamentos em ambos experimentos

Tratamento	∑ 0-14	∑ 0-28	$\bar{X}$ 0-14	$\bar{X}$ 0-28	∑ 0-14	∑ 0-28	$\bar{X}$ 0-14	$\bar{X}$ 0-28
	mg kg^{-1}		mg kg^{-1} d^{-1}		mg kg^{-1}		mg kg^{-1} d^{-1}	
	Experimento A				Experimento B			
T0	41,7	78,7	3,0	2,8	84,6 ^{b}	139,4 ^{b}	6,0 ^{b}	5,0 ^{b}
FO100	44,5	88,3	3,2	3,2	70,3 ^{b}	122,9 ^{b}	5,0 ^{b}	4,4 ^{b}
FM100	41,1	91,1	2,9	3,3	80,6 ^{b}	153,2 ^{b}	5,8 ^{b}	5,5 ^{b}
FM200	45,8	86,3	3,3	3,1	63,2 ^{b}	130,4 ^{b}	4,5 ^{b}	4,7 ^{b}
MAN	75,9	121,8	5,4	4,4	131,9 ^{a}	257,5 ^{a}	9,4 ^{a}	9,2 ^{a}
P ≤	0,11	0,19	0,11	0,19	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*
CV	37,5	26,7	37,5	26,7	26,4	20,3	26,4	20,3
DMS	36,6	48,8	2,6	1,7	44,6	64,1	3,2	2,3

∑ = acúmulo de C-CO_2 emitido durante os dias de incubação especificado; $\bar{X}$ = média de C-CO_2 emitido nos dias de incubação especificado; *CV* = coeficiente de variação (%); *DMS* = diferença mínima significativa para o teste de Tukey (α = 0,1); * = efeito significativo dos tratamentos com p ≤ 0,1 para o teste de Tukey

Houve efeito do tempo nos teores de N mineral para todos os tratamentos (Tabela 3.4) em ambos experimentos, demonstrando que durante a incubação houve balanço favorável aos processos de mineralização comparado ao processo de imobilização. Resultados semelhantes foram encontrados por Schroeder e Wood (2001) ao determinar o potencial na disponibilidade de N mineral na camada superficial de diferentes solos da Austrália com a tentativa de reduzir a fertilização nitrogenada.

Os resultados de emissão de CO_2 durante os períodos de incubação (Tabela 3.5) seguiram a mesma tendência daqueles apresentados pela disponibilidade de N mineral (Tabela 3.4), ou seja, quanto maior a emissão de CO_2 em determinados tratamentos, maior a produção de N mineral. Este resultado era esperado, já que maior AM resulta em maior emissão de CO_2 e, consequentemente, disponibilização de N mineral.

De forma geral, as doses consecutivas de fertilizantes nitrogenados ao longo de quatro anos no EA afetaram pouco os parâmetros microbiológicos, a emissão de CO_2 e a disponibilidade de N mineral, tanto sob manejo agrícola quanto sob mata nativa. Por outro lado, o efeito dos fertilizantes aplicados há três anos no EB parece

ser mais pronunciado quando comparados com o solo sob mata nativa. Isso provavelmente se deve à menor fertilidade do solo do EB comparado ao do EA (Tabela 3.1) e ao seu período de mudança de uso da terra ser menor do que na área do EA, refletindo um sistema agrícola com baixa fertilidade e estabilidade frágil, ainda em fase de mudanças.

3.3.3 Estoques de C orgânico, N total e N mineral

No EA não houveram diferenças nos estoques de CO e NT nos diferentes tratamentos quando avaliadas as camadas separadamente (Tabela 3.6). Entretanto, quando considerada a camada 0-100 cm, a mata apresentou maiores estoques de CO e NT. No EB as diferenças foram mais significativas. A mata apresentou maior estoque de CO em relação aos demais tratamentos nas camadas de 0-20, 60-80 e 80-100 cm; para NT, a mata apresentou maior estoque nas camadas 0-20 e 20-40 cm. No acumulado até 100 cm de profundidade, a mata apresentou 104,7 e 7,2 Mg ha^{-1} de C e N, respectivamente, muito superior ao estoque de CO e NT nos demais tratamentos. Estes resultados indicam que a mudança do uso da terra de um sistema nativo para um sistema agrícola ainda não estabilizado resulta em decréscimos de estoques de CO e NT (BÜNEMANN et al., 2006).

Com exceção da subsuperfície (20-40 cm), o estoque de CO no solo sob mata foi superior quando comparado a qualquer outro tratamento, inclusive quando acumulado de 0-100 cm, corroborando com os resultados encontrados em superfície por Galdos et al. (2009). Na camada de 0-20 cm a porcentagem de redução do estoque de CO do controle em relação à mata foi próxima à 51%, semelhante aos resultados obtidos por Marchiori Júnior e Melo (2000) ao estudarem as alterações na matéria orgânica em função da mudança de uso da terra. Além disso, como esperado, em ambos experimentos os estoques de CO e NT tendem a decrescer em função do aumento da profundidade (THORBURN et al., 2003; PINHEIRO et al., 2010; ROSSI et al., 2013), enquanto os estoques de NM não possuem comportamento padrão, pois são função do somatório das formas iônicas ($N\text{-}NH_4^+$ + $N\text{-}NO_2^-$ + $N\text{-}NO_3^-$), que possuem distribuição espacial heterogênea no perfil do solo (THORBURN et al., 2003; MEIER et al., 2006).

Os estoques de NT não sofreram efeito dos tratamentos que receberam fertilização nitrogenada comparados com o controle. Resultados contrários àqueles

obtidos por Resende et al. (2005) e Graham et al. (2002), no qual observaram diminuição nos estoques de NT para os tratamentos que receberam doses de fertilizantes nitrogenados. Nesse mesmo raciocínio, o tratamento com fertilizante orgânico também não apresentou maiores estoques de CO e NT, diferentemente das constatações de Ladha et al. (2010). Isso pode ser um indicativo de que o tempo de aplicação de fertilizantes orgânicos nestes experimentos não foram suficientes para promover aumento nos estoques de CO e NT do solo.

Os estoques de NM apresentaram um comportamento mais variável do que os estoques de CO e NT. Nas camadas mais superficiais os estoques de NM não seguiram um comportamento padrão. No EB, a mata apresentou o maior estoque de NM na camada 0-20 cm, o que não foi observado no EA (Tabela 3.6). Entretanto, a partir de 40 cm de profundidade, para ambos experimentos, os tratamentos que receberam 200 kg ha^{-1} ano^{-1} de fertilizante mineral apresentaram os maiores estoques. Considerando o acumulado de NM na camada de 0-100 cm, o tratamento FM200 apresentou estoque de 295 kg ha^{-1} de N no EA e 177 kg ha^{-1} de N no EB; estes valores foram superiores aos demais tratamentos, que se situaram entre 130 a 180 kg ha^{-1} de N no EA e de 115 a 130 kg ha^{-1} de N no EB. Ou seja, a aplicação anual de elevadas doses de N resultou em acumulo de NM em subsuperficie.

O acúmulo de NM em profundidade no solo é um indicativo de que a dose de 200 kg ha^{-1} de N está muito acima do requerimento nutricional da cultura e pode estar ocorrendo lixiviação de $N\text{-}NO_3^-$. Solos tropicais podem apresentar cargas positivas em subsuperfície, devido à presença de óxidos de ferro e alumínio com elevado ponto de carga zero; o ânion NO_3^- pode estar se acumulando nestes sítios positivamente carregados.

Resultados destas mesmas áreas experimentais indicaram que a cana-de-açúcar está apresentando baixa resposta ao N-fertilizante no EA e resposta mais significativa no EB. Além disso, os resultados não indicam haver resposta a doses superiores a 150 kg ha^{-1} de N (NASTARO, comunicação pessoal), o que suporta a conclusão de que pode estar ocorrendo perdas de $N\text{-}NO_3^-$ por lixiviação, uma vez que o fertilizante mineral utilizado contém 50% do N na forma nítrica. Esta constatação fica ainda mais evidente se considerados os resultados de Ghiberto et al. (2011, 2015); segundo estes autores, as perdas de $N\text{-}NO_3^-$ por lixiviação são muito pequenas no ciclo de cana-planta, porém são mais significativas em áreas de soqueira, como as avaliadas neste estudo.

Tabela 3.6 – Estoques de carbono orgânico, nitrogênio total e nitrogênio mineral nas diferentes camadas em função dos tratamentos nos dois experimentos

Trat.	CO	NT	NM	CO	NT	NM	CO	NT	NM	CO	NT	NM	CO	NT	NM	CO	NT	NM
	— Mg ha^{-1} —		kg ha^{-1}	— Mg ha^{-1} —		kg ha^{-1}	— Mg ha^{-1} —		kg ha^{-1}	— Mg ha^{-1} —		kg ha^{-1}	— Mg ha^{-1} —		kg ha^{-1}	— Mg ha^{-1} —		kg ha^{-1}
	0-20 cm			20-40 cm			40-60 cm			60-80 cm			80-100 cm			0-100 cm		
	Experimento A																	
T0	21,6	2,5	24,0^{ab}	17,7	1,8	22,7	14,5	1,5	21,6^{c}	12,1^{b}	1,4	49,2^{ab}	12,1	0,9	18,5^{b}	78,1^{b}	7,9^{b}	136,1^{b}
FO100	24,4	2,4	30,9^{a}	19,6	1,7	26,0	14,9	1,5	21,5^{c}	12,8^{b}	1,1	35,9^{bc}	11,8	1,0	19,3^{b}	83,5^{b}	7,7^{b}	133,7^{b}
FM100	24,8	2,3	27,2^{ab}	19,5	2,2	26,3	13,8	1,3	49,4^{ab}	12,5^{b}	1,2	40,0^{bc}	11,8	1,1	40,4^{b}	82,4^{b}	8,1^{b}	183,3^{b}
FM200	23,6	2,6	31,2^{a}	20,7	2,0	32,0	16,3	1,3	66,1^{a}	12,8^{b}	1,1	69,7^{a}	11,4	1,1	95,7^{a}	84,8^{b}	8,2^{b}	294,7^{a}
MAN	23,3	2,3	23,2^{b}	18,9	2,3	23,0	18,5	1,6	47,2^{b}	15,5^{a}	1,1	18,9^{c}	11,9	1,1	19,6^{b}	88,2^{a}	8,5^{a}	131,8^{b}
P <	0,61	0,91	0,03*	0,33	0,09	0,24	0,13	0,28	0,01*	0,03*	0,36	0,01*	0,88	0,20	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*
CV	12,9	21,4	13,7	10,0	15,6	22,9	16,0	12,0	20,8	9,7	17,4	35,1	10,8	13,0	56,7	8,8	7,3	13,6
DMS	5,9	1,0	7,4	3,8	0,6	11,7	4,9	0,3	16,7	2,5	0,4	29,4	2,5	0,3	43,0	14,2	0,8	36,8
	Experimento B																	
T0	18,8^{b}	1,9^{b}	23,1^{b}	18,2	1,7^{b}	31,2	14,2^{a}	1,0	28,6^{b}	13,0^{c}	0,8	14,0^{b}	11,6^{a}	0,6	18,6^{b}	74,4^{b}	5,3^{b}	115,4^{b}
FO100	20,0^{b}	1,8^{b}	26,6^{b}	19,8	1,7^{b}	32,0	14,7^{a}	1,0	31,4^{b}	11,5^{b}	0,9	12,6^{b}	8,9^{b}	0,6	31,6^{a}	76,8^{b}	6,1^{b}	134,2^{b}
FM100	19,4^{b}	1,7^{b}	22,4^{b}	23,0	1,7^{b}	31,9	12,4^{b}	1,0	28,8^{b}	11,7^{b}	0,7	17,3^{b}	9,3^{b}	0,6	31,1^{a}	77,7^{b}	5,8^{b}	131,6^{b}
FM200	19,7^{b}	1,6^{b}	21,8^{b}	20,9	1,7^{b}	37,2	12,2^{b}	1,0	38,9^{a}	11,6^{b}	0,8	29,7^{a}	9,1^{b}	0,6	49,9^{a}	74,5^{b}	5,9^{b}	177,4^{a}
MAN	37,5^{a}	2,4^{a}	34,7^{a}	23,0	2,2^{a}	38,1	15,4^{a}	1,1	23,8^{b}	16,2^{a}	0,8	18,9^{b}	12,5^{a}	0,7	18,8^{b}	104,7^{a}	7,2^{a}	134,4^{b}
P <	0,01*	0,01*	0,01*	0,12	0,02*	0,35	0,02*	0,35	0,02*	0,01*	0,39	0,01*	0,01*	0,27	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*
CV	14,5	14,1	15,2	12,2	15,3	17,5	10,7	10,2	17,2	4,6	16,4	18,1	7,0	13,0	19,0	8,8	7,3	13,6
DMS	6,4	0,5	7,6	5,1	0,5	11,7	2,0	0,2	9,2	1,3	0,3	6,8	1,9	0,2	21,0	14,2	0,8	36,8

CO = estoques de carbono orgânico; *NT* = estoques de nitrogênio total; *NM* = estoques de nitrogênio mineral ($N\text{-}NH_4^+$ + $N\text{-}NO_2^-$ + $N\text{-}NO_3^-$); *CV* = coeficiente de variação (%); *DMS* = diferença mínima significativa para o teste de Tukey (α = 0,1); * efeito significativo dos tratamentos com p ≤ 0,1 para o teste de Tukey

3.3.4. Considerações Gerais

A avaliação das transformações microbiológicas realizadas neste estudo foi determinada em amostras coletadas na camada de 0 a 20 cm, em áreas que receberam distintos manejos de adubação nitrogenada durante quatro (EA) ou três (EB) anos. Os resultados apresentados na Tabela 3.3 indicaram que o manejo adotado no passado afetou muito pouco os parâmetros microbiológicos do solo, como CBM, NBM, AM, qCO_2 e também o N mineral.

A adição cumulativa de doses de N nos dois experimentos também não afetou a DNMT em amostras de solo da camada de 0 a 20 cm, exceto os tratamentos FM200 e MAN no EB que apresentaram aumentos na DNMT (Tabela 3.4).

Entretanto, os resultados apresentados na Tabela 3.6 apresentaram claras evidências de que o manejo da adubação está alterando os estoques de CO e NT do solo e, principalmente, o estoque de NM no solo. Os resultados não comprovaram nossa hipótese de que a adubação orgânica aumenta os estoques de CO e NT a médio prazo, pelo menos durante o período de avaliação destes experimentos. Por outro lado, os resultados apresentaram evidências de que a utilização de doses elevadas de N para adubação de soqueira de cana-de-açúcar muito superiores à quantidade extraída pela cultura (100 a 160 kg ha^{-1}), pode ocasionar aumento nos estoques de NM em camadas de solo mais profundas (> 40 cm). Esta constatação deve ser interpretada com cautela, demonstrando a necessidade de otimizar a adubação nitrogenada da cana-de-açúcar, ajustando as doses a serem aplicadas conforme a demanda da planta e a capacidade do solo em fornecer N por meio da mineralização da matéria orgânica, visando diminuir problemas de lixiviação de nitrato que podem comprometer a sustentabilidade da produção de biocombustíveis a partir da cana-de-açúcar.

3.4 Conclusões

A aplicação consecutiva de fertilizantes nitrogenados, na forma orgânica ou mineral, durante três a quatro anos em áreas de soqueira de cana-de-açúcar, não promoveu mudanças nos atributos microbiológicos do solo (C da biomassa microbiana, N da biomassa microbiana, atividade microbiana, quociente metabólico).

As fertilizações consecutivas também não promoveram alterações na disponibilidade de N através da mineralização, exceto quando elevadas doses de N (200 kg ha^{-1} ano^{-1}) foram aplicadas no EB.

Solos sob mata nativa apresentaram melhores atributos microbiológicos (C da biomassa microbiana, N da biomassa microbiana, respiração basal, quociente metabólico) do que áreas cultivadas com cana-de-açúcar, assim como maior estoque de CO e NT até 1,0 m de profundidade.

A adição anual de fertilizantes orgânicos, ao menos durante três a quatro anos, não alterou os estoques de C orgânico e N total no solo.

Aplicações consecutivas de elevadas doses de N (200 kg ha^{-1} ano^{-1}) provenientes de fontes minerais aumentaram o estoque de N mineral em camadas mais profundas do solo (> 40 cm), indicando potenciais de perdas por lixiviação se forem adotadas doses de N superiores à capacidade de extração de N pela cana-de-açúcar.

Referências

ALEF, K. Soil respiration**.** In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Elsevier, 1995. p. 214-219.

ANDERSON, T.-H.; DOMSCH K. H. Determination of eco-physiological maintenance requirements of soil microorganisms in a dormant state. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 1, p. 81-89, 1985.

BAETHGEN, W.E.; ALLEY, M.M. A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil and plant Kjeldhal digests. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Oxford, v. 20, p. 961-969, 1989.

BREMNER, J.M. Nitrogen - total. In: SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T.; SUMMER, M.E. (Ed.). **Methods of soil analysis.** Madison: Soil Science Society of America, 1996. pt. 3: Chemical methods, chap. 37, p. 1085-1122.

BÜNEMANN, E.K.; SCHWENKE, G.D.; Van ZWIETEN, L. Impacts of agricultural inputs on soil organisms: a review. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 44, p. 379-406, 2006.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; VENEGAS, V.H.A.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. **Fertilidade do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. cap. 7, p. 375-470.

COLVAN, S.R.; SYERS, J.K.; O'DONNELL, A.G. Effect of long-term fertilizer use on acid and alkaline phosphomonoesterase and phosphodiesterase activities in managed grassland. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 34, p. 258-263, 2001.

DALAL, R.C. Soil microbial biomass-what do the numbers really mean? **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v. 38, p. 649-665, 1998.

DE-POLLI, H.; GUERRA, J.G.M. Carbono, nitrogênio e fósforo na biomassa microbiana. In: SANTOS, G.A.; SILVA, L.S.; CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F.A.O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo:** ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre: Metrópole, 2008. cap. 17, p. 263-276.

DOMINY, C.S.; HAYNES, R.J.; van ANTWERPEN, R. Loss of soil organic matter and related soil properties under long-term sugarcane production on two contrasting soils. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 36, p. 350-356, 2002.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos.** 2. ed. Rio de Janeiro, 2006. 306 p.

FRAZÃO, L.A.; PICCOLO, M.C.; FEIGL, G.J.; CERRI, C.C.; CERRI, C.E.P. Inorganic nitrogen, microbial biomass and microbial activity of a sandy Brazilian Cerrado soil under different land uses. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 135, p. 161-167, 2010.

FRIGHETTO, R.T.S. Análise da biomassa microbiana em carbono: método de fumigação-extração. In: FRIGHETTO, R.T.S.; VALARINI, P.J. **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo.** Jaguariúna: EMBRAPA, 2000. p. 157-166.

GALDOS, M.V.; CERRI, C.C.; CERRI, C.E.P. Soil carbon stocks under burned and unburned sugarcane in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 153, p. 347-352, 2009.

GAMA-RODRIGUES, E.F.; GAMA-RODRIGUES, A.C. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS, G.A.; SILVA, L.S.; CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F.A.O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo:** ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre: Metrópole, 2008. cap. 11, p. 159-170.

GAMA-RODRIGUES, E.F.; GAMA-RODRIGUES, A.C.; PAULINO, G.M.; FRANCO, A.A. Atributos químicos e microbianos de solos sob diferentes coberturas vegetais no norte do estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p.1521-1530, 2008.

GARCIA GIL, J.C.; PLAZA, C.; SENESI, N.; BRUNETTI, G.; POLO, A. Effects of sewage sludge amendment on humic acids and microbiological properties of a semiarid Mediterranean soil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 39, p. 320-328, 2004.

GEE, G.W.; OR, D. Particle-Size Analysis. In: DANE, J.H.; TOPP, G.C.; CAMPBELL, G.S.; ES, H.M.; HORTON, R.; JURY, W.A.; NIELSEN, D.R.; WIERENGA, P.J.

Methods of soil analysis. Madison: Soil Science Society of America, 2002. pt. 4: Physical Methods, chap. 2, p. 255-293.

GHIBERTO, P.J.; LIBARDI, P.L.; TRIVELIN, P.C.O. Nutrient leaching in an Ultisol cultivated with sugarcane. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 148, p. 141-149, 2015.

GHIBERTO, P.J.; LIBARDI, P.L.; BRITO, A.S.; TRIVELIN, P.C.O. Leaching of nutrients of a sugarcane crop growing on an Ultisol in Brazil. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 96, p. 1443-1448, 2009.

GRAHAM, M.H.; HAYNES, R.J.; MEYER, J.H. Soil organic matter content and quality: effects of fertilizer applications, burning and trash retention on a long-term sugarcane experiments in South Africa. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 34, p. 93-102, 2002.

HART, S.C.; STARK, J.M.; DAVIDSON, E.A.; FIRESTONE, M. Nitrogen mineralization, mobilization, and nitrification. In: WEAVER, R.W.; ANGLE, J.S.; BOTTOMLEY, P.S. (Ed.). **Methods of soil analysis.** Madison: Soil Science Society of America, 1994. pt. 2: Microbiological and biochemical properties, chap. 42, p. 985-1016.

JOERGENSEN, R.G.; BROOKES, P.C. Ninhydrin-reactive nitrogen measurements of microbial biomass in 0,5 M K_2SO_4 soil extracts. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 22, p. 1023-1027, 1990.

KAUER, K.; TEIN, B.; CIMA, D.S.; TALGRE, L.; EREMEEV, V.; LOIT, E.; LUIK, A. Soil carbon dynamics estimation and dependence on farming system in a temperate climate. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 154, p. 53-63, 2015.

KHAN, S.A.; MULVANEY, R.L.; ELLSWORTH, T.R.; BOAST, C.W. The myth of nitrogen fertilization for soil carbon sequestration. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 36, p. 1821-1832, 2007.

LA SCALA JÚNIOR, N.; DE FIGUEIREDO, E.B.; PANOSSO, A.R. A review on soil carbon accumulation due to the management change of major Brazilian agricultural activities. **Brazilian Journal of Biology**, São Paulo, v. 72, p. 775-785, 2012.

LADHA, J.K.; REDDY, C.K.; PADRE, A.T.; KESSEL, C. van. Role of nitrogen fertilization in sustaining organic matter in cultivated soils. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 40, p. 1756-1766, 2011.

LEITA, L.; DE NOBILI, M.; MONDINI, C.; MUHLBACHOVA, G.; MARCHIOL, L.; BRAGATO, G.; CONTIN, M. Influence of inorganic and organic fertilization on soil microbial biomass, metabolic quotient and heavy metal bioavailability. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 28, p. 371-376, 1999.

LIU, E.; YAN, C.; MEI, X.; ZHANG, Y.; FAN, T. Long-term effect of manure and fertilizer on soil organic carbon pools in dryland farming in northwest China. **PLoS One**, Cambridge, v. 8, n. 2, 2013. Disponível em:

<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0056536>. Acesso em: 20 fev. 2014.

MARCHIORI JÚNIOR, M.; MELO, W. J. Alterações na matéria orgânica e na biomassa microbiana em solo de mata natural submetido a diferentes manejos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 3, p. 1177-1182, 2000.

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

MARIANO, E. **Predição da necessidade de fertilizante nitrogenado pela cana-de-açúcar e reações do nitrogênio orgânico e mineral dissolvidos em palha e solo de canaviais**. 2015. 146 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

MEGDA, M.X.V. **Transformações do N derivado do fertilizante no solo e a eficiência de utilização pela cultura da cana-de-açúcar em solo coberto por palha**. 2013. 156 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

MEIER, E.A.; THORBURN, P.J.; WEGENER, M.K.; BASFORD, K.E. The availability of nitrogen from sugarcane trash on contrasting soils in the wet tropics of North Queensland. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Amsterdã, v. 75, p. 101-114, 2006.

MIRANDA, K.M.; ESPEY, M.G.; WINK, D.A.A rapid simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. **Biology and Chemistry**, Amsterdam, v. 5, p. 62-71, 2001.

MULVANEY, R.L. Nitrogen – inorganic forms. In: SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T.; SUMMER, M.E. (Ed.). **Methods of soil analysis.** Madison: Soil Science Society of America, 1996. pt. 3: Chemical methods, chap. 38, p. 1123-1184.

MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A.; ELLSWORTH, T.R. Synthetic nitrogen fertilizers deplete soil nitrogen: a global dilemma sustainable cereal production. **Journal of Environmental Quality**, Amsterdam, v. 38, p. 2295-2314, 2009.

NELSON, D.W.; SOMMERS, L.E. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T.; SUMMER, M.E. (Ed.). **Methods of soil analysis.** Madison: Soil Science Society of America, 1996. pt. 3: Chemical methods, chap. 34, p. 961-1010.

OLIVEIRA, J.C.M.; REICHARDT, K.; BACCHI, O.O.S.; TIMM, L.C.; DOURADO NETO, D.; TRIVELIN, P.C.O.; TOMINAGA, T.T.; NAVARRO, R.C.; PICCOLO, M.C.;

CASSARO, F.A.M. Nitrogen dynamics in a soil-sugar cane system. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, p.467-472, 2000.

OLSON, K.R. Soil organic carbon sequestration, storage, retention and loss in US croplands: Issues paper for protocol development. **Geoderma**, Amsteram, v. 195, p. 201-206, 2013.

OTTO, R.; MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A.; TRIVELIN, P.C.O. Quantifying soil nitrogen mineralization to improve fertilizer nitrogen management of sugarcane. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 49, p. 893–904, 2013.

PARHAM, J.A.; DENG, S.P.; RAUM, W.R.; JOHNSON, G.V. Long-term cattle manure application in soil. I. Effect on soil phosphorus levels, microbial C, and dehydrogenase and phosphatase activities. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 35 p. 328–337, 2002.

PINHEIRO, E.F.M.; LIMA, E.; CEDDIA, M.B.; URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. Impact of pre-harvest burning versus trash conservation on soil carbon and nitrogen stocks on a sugarcane plantation in Brazilian Atlantic forest region. **Plant and Soil**, The Hague, v. 333, p. 71-80, 2010.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; TAVARES, S.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais.** Campinas: Instituto Agronômico, 2001. 285 p.

RESENDE, A.S.; XAVIER, R.P.; OLIVEIRA, O.C.; URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. Long-term effects of pre-harvest burning and nitrogen and vinasse applications on yield of sugar cane and soil carbon and nitrogen stocks on a plantation in Pernambuco, N.E. Brazil. **Plant and Soil**, The Hague, v. 281, p. 339-351, 2006.

RIGGS, C.E.; HOBBIE, S.E.; BACH, E.M.; HOFMOCKEL, K.S.; KAZANSKI, C.E. Nitrogen addition changes grassland soil organic matter decomposition. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 125, p. 203-2019, 2015.

ROSSI, C.Q.; PEREIRA, M.G.; LOSS, A.; GAZOLLA, P.R.; PERIN, A.; ANJOS, L.H.C. Changes in soil C and N distribution assessed by natural 13C and 15N abundance in a chronosequence of sugarcane crops managed with pre-harvest burning in a Cerrado area of Goiás, Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 170, p. 36-44, 2013.

SCHROEDER, B.L.; WOOD, A.W. Assessment of nitrogen mineralizing potential of soils in two different landscapes in the autralian sugar industry – implications for N fertilizer management. **Australian Society of Sugar Cane Technology**, Brisbane, v. 23, p. 281-288, 2001.

SIGNOR, D.; CERRI, C.E.P.; CONANT, R. N_2O emissions due to nitrogen fertilizer applications in two regions of sugarcane cultivation in Brazil. **Environmental Research Letters**, Bristol, v. 8, 10 p., 2013.

SILVA, R.R.; SILVA, M.L.N.; CARDOSO, E.L.; MOREIRA, F.M.S.; CURI, N.; ALOVISI, A.M.T. Biomassa e atividade microbiana em solo sob diferentes sistemas de manejo na região fisiográfica Campos das Vertentes-MG. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, p. 1585-1592, 2010.

SINGH, S.N.; SINGH, A.K.; MALIK, J.P.S.; KUMAR, R.; SUNDERPAL; SHARMA, M.L. Cultura-practice packages and trash management effects on sugarcane ratoons under sub-tropical climatic conditions of India. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 150, p. 237-247, 2012.

SOUZA, E.D. de; CARNEIRO, M.A.C.; PAULINO, H.B.; SILVA, C.A.; BUZETTI, S. Frações do carbono orgânico, biomassa e atividade microbiana em um Latossolo Vermelho sob cerrado submetido a diferentes sistemas de manejos e usos do solo. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28 p. 323–329, 2006.

SPEIR, T.W.; van SCHAIK, A.P.; LLOYD JONES, A.R.; KETTLES, H.A. Temporal response of soil biochemical properties in a pastoral soil after cultivation following high application rates of undigested sewage sludge. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 38, p. 377-385, 2003.

SPIRONELLO, A.; RAIJ, B. van; PENATTI, C.P.; CANTARELLA, H.; MORELLI, J.L.M.; ORLANDO FILHO, J.; LANDELL, M.G.A.; ROSSETO, R. Outras culturas industriais. In: RAIJ, B.van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agronômico, 1997. p. 237-239. (IAC. Boletim Técnico, 100).

SRIVASTAVA, P.; RAGHUBANSHI, A.S.; SINGH, R.; TRIPATHI, S.N. Soil carbon efflux and sequestration as a function of relative availability of inorganic N pools in dry tropical agroecosystem. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 96, p. 1-6, 2015.

STOCKMANN, U.; ADAMS, M.A.; CRAWFORD, J.W. The knowns, known unknowns and unknowns of sequestration of soil organic carbon. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 164, p. 80-99, 2013.

SUMAN, A.; SINGH, K.P.; SINGH, P.; YADAV, R.L. Carbon input, loss and storage in sub-tropical Indian Inceptisol under multi-ratooning sugarcane. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 104, p. 221-226, 2009.

THORNBURN, P.J.; DART, I.K.; BIGGS, T.M.; BAILLIE, C.P.; SMITH, M.A.; KEATING, B.A. The fate of nitrogen applied to sugarcane by trickle irrigation. **Irrigation Science**, New York, v. 22, p. 201-209, 2003.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, Berlin, v. 19, p. 703-707, 1987.

VITTI, A.C. **Adubação nitrogenada da cana-de-açúcar (soqueira) colhida mecanicamente sem a queima prévia:** manejo e efeito na produtividade. 2003. 114 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; FRANCO, H.C.J.; BOLOGNA, I.R. FARONI, C.E. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada à localização de adubos nitrogenados aplicados sobre os resíduos culturais em canavial sem queima. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 491-498, 2007.

WARDLE, D.A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. **Biological Reviews**, Cambridge, v. 67, p. 321-358, 1992.

WITTER, E.; MARTENSSON, A.M.; GARCIA, F.V. Size of the soil microbial biomass in a long-term field experiment as affected by different N-fertilizers and organic manures. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 659-669, 1993.

4 IMPACTOS DA FERTILIZAÇÃO NITROGENADA CONSECUTIVA NA FERTILIDADE DE SOLOS CULTIVADOS COM CANA-DE-AÇÚCAR

Resumo

A manutenção da palhada na superfície do solo cultivado com cana-de-açúcar colhida sem queima prévia pode aumentar a ciclagem do potássio (K) no sistema solo-planta. Por outro lado, o aumento nas doses de nitrogênio (N) aplicadas nessas condições pode promover maior acidificação do solo ao longo dos anos. A hipótese deste trabalho é de que o aumento da adubação nitrogenada em áreas cultivadas com cana-de-açúcar sob este sistema potencializa a acidificação do solo, assim como a manutenção da palha promove acúmulo de K na camada superficial do solo. Foram coletadas amostras de solo nas camadas de 0-20 e 20-40 cm de dois experimentos (EA e EB) conduzidos em delineamento casualizado em blocos com quatro repetições. Os tratamentos incluem doses de N variando de 0 a 200 kg ha^{-1} ano^{-1}, além de fontes minerais de N e duas fontes orgânicas aplicadas sobre a palha. Os fertilizantes foram reaplicados anualmente durante quatro (EA) ou três (EB) anos, antes que a amostragem de solo fosse realizada. Nessas amostras foram avaliadas a fertilidade do solo, além da fração de N hidrolisável pelo método do Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT). O aumento das doses de N aplicadas sobre a palha potencializou a acidificação do solo ao longo dos anos, além de promover diminuição de teores de bases trocáveis, com destaque para o K. O fertilizante orgânico foi mais efetivo do que os fertilizantes minerais na manutenção da fertilidade do solo, além de promover menor acidificação no solo. O aumento dos teores de K no solo em áreas sob colheita de cana-de-açúcar sem prévia queima depende da dose de fertilizante potássico aplicado, assim como da produtividade obtida. Neste estudo, houve aumento do teor de K ao longo dos anos somente na área que apresentou menores produtividades. O teor de N-ISNT pode ser um indicador de responsividade à adubação nitrogenada. A manutenção da fertilidade do solo para produção sustentável de biocombustíveis ao longo dos anos depende do manejo adequado da fertilização nitrogenada da cana-de-açúcar com manutenção da palhada.

Palavras-chave: Fertilizante organomineral; Manutenção da palhada; Acidificação do solo; Atributos químicos do solo; Illinois Soil Nitrogen Test – ISNT

Abstract

The maintenance of straw over the soil surface cultivated with sugarcane harvested without burning can increase potassium (K) cycling in the soil-plant system. On the other hand, the increase in nitrogen (N) rates under these conditions can promote soil acidity over the years. This study hypothesized that the increase in N fertilization in sugarcane harvested without burning potentiate soil acidification, as well as the maintenance of straw promote K accumulation in the topsoil. Soil samples were collected at 0-0.2 and 0.2-0.4 m in two experiments (EA and EB) carried out in the randomized blocks experimental design with four replicates. Treatments included N rates varying from 0 to 200 kg ha^{-1} y^{-1}, inorganic N sources and two organic N sources applied over the straw. Fertilizers were applied annually during four (EA) or three (EB) years before soil sampling was performed. These samples were used to

evaluate soil fertility parameters, as well as the hydrolysable organic-N fraction by the Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT). Increasing N rates in the over the straw promoted soil acidification and reduces exchangeable bases (especially K) over the years. Organic fertilizer was more effective than inorganic fertilizers to maintain soil fertility, besides lowering soil acidity. The increase in soil K content depends on the amounts of fertilizer-K applied, as well as the yield obtained. In this study, only in the lower yielding area the K content increased in the topsoil over the years. The ISNT-N content can be an indicator of responsiveness to N fertilization. The maintenance of soil fertility for sustainable biofuel production depends on the proper management of N fertilization of sugarcane with maintenance of straw.

Keywords: Organomineral fertilizer; Maintenance of straw; Soil acidification; soil chemical properties; Illinois Soil Nitrogen Test - ISNT

4.1 Introdução

A cultura da cana-de-açúcar extrai elevadas quantidades de nutrientes na parte aérea, tanto na cana planta como em soqueiras (ROSSETO et al., 2008). Entretanto, quando considerada a elevada produção de biomassa, observa-se que a cana-de-açúcar apresenta alta eficiência de produção com relativamente baixos aportes de nutrientes, principalmente se considerada a produtividade de açúcar, etanol e energia por área ou por kg de nutrientes.

Segundo Silva (2007) e Oliveira et al. (2010), a cana-de-açúcar extrai entre 159 e 179 kg ha^{-1} de N, 23 e 25 kg ha^{-1} de P, 231 e 325 kg ha^{-1} de K, 354 e 226 kg ha^{-1} de Ca e 87 e 134 kg ha^{-1} de Mg para diferentes variedades em condições de sequeiro e irrigação, respectivamente. Evidentemente que a extração de nutrientes está relacionada a diversas variáveis, como produtividade, variedade, teor de nutrientes no solo e uso de fertilizantes orgânicos e minerais, assim como condições climáticas.

Uma das preocupações recorrentes refere-se à manutenção da fertilidade do solo com o cultivo continuo de cana-de-açúcar para produção de açúcar, etanol e energia. Mesmo com elevadas taxas de ciclagem dos nutrientes pela palhada de cana-de-açúcar (OLIVEIRA et al., 1999), as elevadas extrações de nutrientes pela cultura podem resultar em diminuição dos cátions básicos do solo (K, Ca e Mg) e consequentemente sua acidificação, tanto em camadas superficiais como subsuperficiais (MASILACA et al., 1985; ALABAN et al., 1990).

Para manutenção de produtividades elevadas, faz-se necessário a conservação da sua fertilidade através de práticas de manejo conservacionista,

como o uso de corretivos e condicionadores (PRADO et al., 2002), rotação de culturas (ALVARENGA et al., 1995; AMBROSANO et al., 2009) e aplicação de fertilizantes de natureza mineral ou orgânica para reposição dos nutrientes no solo (RAIJ et al., 1997).

Embora as aplicações destas práticas tenham agregado melhora na fertilidade dos solos, há um interesse em sua utilização para aumento do aporte de N no sistema (ORLANDO FILHO, 1983; CARNAÚBA, 1990; DEMATTÊ, 2005), visando o aumento da produtividade e a longevidade das soqueiras focada na diluição dos custos de instalação e antecipação dos lucros (SILVA, 2006). Como consequência, há uma acidificação precoce do solo (SCHROEDER et al., 1994; HARTEMINK, 1998a).

Cerca de 84% da área cultivada com cana-de-açúcar no Estado de São Paulo já é colhida sem queima (Protocolo Agroambiental do Setor Sucroenergético, 2014). A mudança do sistema de colheita com queima para colheita sem queima promove mudanças significativas no manejo da cultura e na fertilidade do solo. A colheita sem queima deixa sobre o solo quantidades de palhada que variam de 10 a 20 Mg ha^{-1} de matéria seca (FORTES et al., 2013; LEAL et al., 2012).

A quantidade de nutrientes acumulada na palhada varia conforme a variedade, produtividade obtida e condições de solo, porém pode-se citar valores da ordem de 40 a 70 kg ha^{-1} de N, 4 a 23 kg ha^{-1} de P, 35 a 170 kg ha^{-1} de K, 10 a 80 kg ha^{-1} de Ca, 6 a 30 kg ha^{-1} de Mg e de 7 a 15 kg ha^{-1} de S (OLIVEIRA et al., 2002; MEIER et al., 2006). Destes, o K, seguido do Ca e N, são aqueles liberados mais rapidamente de um ciclo para outro (FORTES et al., 2012). Portanto, em áreas sob manejo conservacionista da palhada é esperado o aumento do teor de K no solo em anos consecutivos, considerando a elevada quantidade de K presente na palhada e sua rápida ciclagem no solo.

Apesar da palhada conter quantidades significativas de N, sua relação C/N varia de 80 a 100 (FORTES et al., 2012), o que dificulta o processo de decomposição e liberação do N dos constituintes estruturais e orgânicos deste material. O resultado é que durante um ciclo agrícola, menos de 15% do N acumulado na palhada é recuperado pela soqueira subsequente (TRIVELIN et al., 2013). Além disso, devido à elevada relação C/N do material, técnicos tem recomendado aumento da dose de N em áreas colhidas sem prévia queima

(ROSSETTO et al., 2010) como forma de diminuir problemas de imobilização do N-fertilizante no processo de decomposição da palhada.

Na prática, os produtores de cana-de-açúcar têm diminuído as doses de adubos potássicos e aumentado as doses de adubos nitrogenados em áreas colhidas sem prévia queima, quando comparado ás doses usualmente empregada em áreas colhidas com prévia queima. Essa alteração de manejo pode fazer sentido a curto prazo, porém não deve prevalecer se considerado que a manutenção da palhada contribui para aumento do estoque de N no solo a longo prazo, conforme projeções de Trivelin et al. (2013) e Robertson e Thorburn (2007).

Uma das preocupações referentes ao aumento das doses de adubos nitrogenados em áreas sob colheita de cana-de-açúcar sem prévia queima refere-se à acidificação do solo resultante do processo de nitrificação dos fertilizantes nitrogenados (CANTARELLA et al., 2007). Esta acidificação irá diminuir a disponibilidade das bases trocáveis e consequentemente sua porcentagem de saturação na CTC (MASILACA et al., 1985; ALABAN et al., 1990; SCHROEDER et a., 1994; HARTEMINK, 1998b), aumento da saturação da CTC-efetiva por Al (SCHROEDER et al., 1994), menor disponibilidade de P (ALABAN et al., 1990; HARTEMINK, 1998c) e menor mineralização do material orgânico (SCHROEDER et al., 1994). Além do problema da acidificação, também deve-se considerar o potencial de lixiviação de N em soqueiras (GHIBERTO et al., 2015), o qual deve ser evitado para produção sustentável dos biocombustíveis.

Na cultura da cana-de-açúcar os fertilizantes nitrogenados mais utilizados incluem a ureia, nitrato de amônio, sulfato de amônio e MAP (CANTARELLA et al., 2007), além daqueles de natureza orgânica, como torta de filtro, cinzas de caldeira, compostos orgânicos e a própria vinhaça. Segundo Andrews (1954) os índices de acidificação dos fertilizantes são: 84 kg $CaCO_3$ 100 kg^{-1} de ureia, 62 kg $CaCO_3$ 100 kg^{-1} de nitrato de amônio, 110 kg $CaCO_3$ 100 kg^{-1} de sulfato de amônio e 55 kg $CaCO_3$ 100 kg^{-1} de MAP. Os fertilizantes orgânicos, por sua vez, podem diminuir o efeito acidificante no solo devido ao aporte de matéria orgânica presente em sua composição, que contribui significativamente no poder tampão do solo (ALMEIDA JUNIOR et al., 2011). Outros fertilizantes nitrogenados têm sido utilizados em cana-de-açúcar, como o fertilizante organomineral Ajifer® (MARIANO et al., 2015), mas seus efeitos em solos cultivados com cana-de-açúcar precisam ser melhor esclarecidos.

Considerando o aumento da área sob colheita de cana-de-açúcar sem prévia queima e o aumento das doses de N aplicadas nestas condições no Brasil, torna-se necessário avaliar a influência da manutenção da palha e, ao mesmo tempo, das fontes e doses de fertilizantes nitrogenados nos atributos químicos do solo. Mais importante, estas avaliações precisam ser realizadas em anos consecutivos para verificar se o cultivo da cana-de-açúcar tem promovido manutenção da fertilidade do solo considerando os manejos atualmente adotados em larga escala.

A hipótese deste trabalho é de que a manutenção da palhada na superfície do solo promove aumento dos teores de K no solo a médio prazo, e de que o aumento da fertilização nitrogenada consecutiva em solos cultivados com soqueiras de cana-de-açúcar promove intensa acidificação do solo e consequentemente diminuição de bases trocáveis, principalmente quando submetidas a elevadas doses. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a variação da fertilidade do solo relacionadas à diferentes fontes e doses de N aplicadas sobre a palha consecutivamente há mais de três anos em dois solos cultivados com cana-de-açúcar colhida sem queima prévia no Estado de São Paulo.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Experimentação de campo

4.2.1.1 Caracterização das áreas experimentais

Figura 4.1 – Localização dos experimentos A e B dentro dos limites territoriais do município de Novo Horizonte/SP

Figura 4.2 – Imagem aérea e posicionamento geográfico dos experimentos A e B e respectivas matas

Dois experimentos de campo foram conduzidos em diferentes talhões comerciais cultivados com cana-de-açúcar. Ambas as áreas experimentais pertencem à Usina São José da Estiva S/A – Açúcar e Álcool, e situam-se na Fazenda Três Pontes, no município de Novo Horizonte/SP (Figura 4.1). Os experimentos aqui abordados serão denominados de “Experimento A” (EA) e “Experimento B” (EB) (Figura 4.2). Eles estão localizados nas coordenadas geográficas 21° 30' 33,56" S / 49° 18' 49,73" O (EA) e 21° 32' 37,02" S / 49° 19' 27,58" O (EB). O clima da região é do tipo Aw segundo a Classificação Climática de Köppen, denominado tropical úmido, com estiagem no inverno e chuvas intensas no verão. As cultivares escolhidas foram a SP91-1285 e a CTC15, respectivamente plantadas nos talhões referentes aos Experimentos A e B. As principais

características das variedades acima são: elevada produtividade, longevidade de soqueira, alta rusticidade e tolerância à seca, ambas apresentando ciclo de maturação médio.

Os solos das áreas experimentais foram previamente classificados como Latossolo Vermelho-Amarelo de textura média (EA) e Latossolo Vermelho de textura média (EB) (EMBRAPA, 2006). Os resultados das análises químicas e físicas em amostras de solo coletadas na instalação dos experimentos (outubro de 2010 e 2011 respectivamente para EA e EB) seguindo as metodologias descritas em Raij et al. (2001) e Gee e Or (2002) são apresentados na Tabela 4.1.

As análises incluíram: pH em H_2O realizando a leitura em potenciômetro; carbono orgânico (CO), oxidação por dicromato de potássio e determinação por titulometria; fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg), extraídos pela resina trocadora de íons e determinado por espectrofotometria (P), espectrofotometria de chama (K), e espectrofotometria de absorção atômica (Ca e Mg); Al Trocável (Al), determinado por titulometria após reação com KCl 1,0 mol L^{-1}; acidez potencial (H+Al), determinada pela leitura do pH em solução SMP; soma de bases (SB), determinada pela soma dos teores de Ca, Mg e K; capacidade de troca catiônica (CTC), determinada pela razão entre SB e H+Al; saturação por bases (V), determinada pela razão entre SB e CTC; saturação por Al (m), determinada pela razão entre o Al e a soma da SB com Al; areia (Are), silte (Slt) e argila (Agl), determinadas pelo método do densímetro.

Tabela 4.1 – Características químicas e físicas dos solos dos experimentos A e B

Prof.	pH	CO	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	V	m	Are	Slt	Agl
cm	H_2O	g kg^{-1}	mg kg^{-1}	mmol$_c$ kg^{-1}							%		g kg^{-1}		
Experimento A															
0-20	5,5	7,6	13,0	1,9	11,0	5,0	1,0	17,0	17,9	34,9	52	5	747	51	202
20-40	4,9	7,0	20,0	1,6	6,0	3,0	5,0	19,0	10,6	29,6	37	31	719	29	252
40-60	4,9	5,2	6,0	1,0	5,0	3,0	5,0	16,0	9,0	25,0	34	38	692	30	278
60-80	4,8	4,6	4,0	0,9	3,0	2,0	6,0	12,0	5,9	17,9	33	48	686	37	276
80-100	4,7	2,9	3,0	0,8	3,0	2,0	6,0	13,0	5,8	18,8	29	55	684	38	278
Experimento B															
0-20	5,6	7,0	9,0	2,5	11,0	4,0	1,0	13,0	17,5	30,5	58	5	820	30	150
20-40	5,4	7,0	7,0	1,0	13,0	4,0	1,0	10,0	18,0	28,0	66	5	784	17	200
40-60	5,1	5,2	6,0	0,5	5,0	3,0	3,0	15,0	8,5	23,5	36	25	780	20	200
60-80	4,7	4,1	5,0	0,4	4,0	2,0	6,0	15,0	6,4	21,4	28	49	770	29	201
80-100	4,7	2,9	4,0	0,5	4,0	2,0	4,0	11,0	6,5	17,5	36	42	759	28	213

4.2.1.2 Histórico das áreas

Os solos das áreas experimentais foram corrigidos na implantação dos canaviais com a utilização de corretivos, condicionadores e fertilizantes a fim de evitar deficiências nutricionais e toxicidade de alumínio, favorecendo assim o crescimento radicular e a resposta da cultura à aplicação dos tratamentos. Além disso, ambas as áreas receberam fertilização organomineral através da aplicação de composto orgânico (obtido por meio da compostagem de torta de filtro e cinzas) enriquecido com fosfato natural reativo aplicado em área total (Tabela 4.2). O composto orgânico foi aplicado com cerca de 24% de umidade. As duas áreas possuem histórico de aplicação de vinhaça nos anos anteriores à implantação dos experimentos: 12 e 10 anos para os experimentos A e B respectivamente, ambos com média de 120 m^3 ha^{-1} ano^{-1}. Na área do EA foi cultivado amendoim em sistema "meiosi" anteriormente a instalação do canavial, contribuindo para fixação biológica do N e incorporação de N orgânico ao solo.

Tabela 4.2 – Relação dos produtos (corretivos, condicionadores e fertilizantes) utilizados na implantação dos canaviais referentes aos experimentos A e B

Data	Produto	Operação	Aplicação	Dose	Unidade
		Experimento A			
Nov/2008	Calcário Dolomítico	Calagem	A lanço	2,0	t ha^{-1}
Mar/2009	Cinzas	Aplicação de FOM	A lanço	2,2	t ha^{-1}
Mar/2009	Torta de Filtro	Aplicação de FOM	A lanço	4,5	t ha^{-1}
Mar/2009	Rocha Fosfática	Aplicação de FOM	A lanço	0,5	t ha^{-1}
Mar/2009	Agrolmin®	Adubação de Base	Sulco de Plantio	262,0	L ha^{-1}
Mar/2009	Adubo (03-12-00)	Adubação de Base	Sulco de Plantio	594,7	t ha^{-1}
		Experimento B			
Fev/2009	Calcário Dolomítico	Calagem	A lanço	2,0	t ha^{-1}
Fev/2009	Cinzas	Aplicação de FOM	A lanço	3,8	t ha^{-1}
Fev/2009	Torta de Filtro	Aplicação de FOM	A lanço	4,3	t ha^{-1}
Fev/2009	Rocha Fosfática	Aplicação de FOM	A lanço	0,4	t ha^{-1}
Mar/2009	Agrolmin®	Adubação de Base	Sulco de Plantio	240,9	L ha^{-1}
Mar/2009	Adubo (03-12-00)	Adubação de Base	Sulco de Plantio	574,7	t ha^{-1}

FOM = fertilizante organomineral

A implantação dos canaviais comercias em ambas as áreas ocorreu em março de 2009, contudo a instalação dos experimentos ocorreu posteriormente em safras distintas: em outubro de 2010 para o EA, ou seja, realizada logo após a colheita da cana-planta; e em outubro de 2011 para o EB, ou seja, realizada após a

colheita da primeira soqueira, um ano após a instalação do EA. Sendo assim, considerando-se o tratamento que recebeu a maior dose de N (200 kg ha^{-1} ano^{-1} N), as doses acumuladas são de 800 kg ha^{-1} de N no EA (quatro anos recebendo a adubação nitrogenada) e de 600 kg ha^{-1} de N no EB (três anos recebendo a adubação nitrogenada).

Os tratos culturais em ambos experimentos, como controle de pragas e de plantas daninhas, foram realizados pela equipe agrícola da Usina, adotando-se o mesmo manejo das demais áreas comerciais. As colheitas foram realizadas mecanicamente sempre no mês de agosto, sendo a palha residual distribuída de forma homogênea sobre a superfície do solo.

4.2.1.3 Tratamentos e delineamento experimental

Os experimentos foram instalados no delineamento em blocos casualizados, com nove tratamentos e quatro repetições, totalizando 36 unidades experimentais por experimento. Os tratamentos aplicados foram: controle (T0 – sem aplicação de fertilizante nitrogenado), adubação com as fontes nitrato de amônio (NA100), ureia (UR100), composto orgânico (CO100) e Ajifer® (AJ100) na dose 100 kg ha^{-1} ano^{-1} N, e adubação com a fonte YaraBella Nitromag™ nas doses de 50 (NM50), 100 (NM100), 150 (NM150) e 200 (NM200) kg ha^{-1} ano^{-1} N. Os tratamentos dentro dos experimentos foram reaplicados respectivamente nas mesmas unidades experimentais desde a instalação dos experimentos, e repetidos até a colheita da última soqueira de cana-de-açúcar em agosto de 2015.

Cada unidade experimental foi composta de oito linhas de cana-de-açúcar com 15 m de comprimento e espaçamento de 1,5 m, totalizando 180 m² por parcela, deixando-se 2 m de bordadura entre as parcelas.

4.2.1.4 Aplicação dos tratamentos

Todos os níveis dos tratamentos foram aplicados sobre a palha residual ao lado da linha da soqueira, a uma distância aproximada de 20 cm do centro da linha de cana-de-açúcar, sempre no sentido contrário da declividade (Figura 4.3). A aplicação foi manual e aplicada de uma única vez até o final dos 15 m de cada linha para melhor uniformidade. Os tratamentos foram aplicados cerca de 60 dias após a

colheita de cada soqueira. Além do N nas diferentes fontes e doses, também foi aplicado K e P em todos os tratamentos, na dose de 85 kg ha^{-1} K_2O e 35 kg ha^{-1} P_2O_5, seguindo a recomendação oficial de adubação (SPIRONELLO et al., 1997).

A fonte de fertilizante nitrogenado mineral YaraBella Nitromag™ (Nitromag) apresenta uma combinação de nitrogênio nítrico e amoniacal (total de 27% de N), além de cálcio (4% de Ca) e magnésio (2% de Mg) na forma de dolomita, apresentando comportamento no solo muito semelhante ao do nitrato de amônio.

A fonte de fertilizante nitrogenado orgânico foi o composto orgânico, produzido na própria Usina a partir da compostagem de subprodutos agroindustriais como torta de filtro, cinza de caldeira e outros materiais complementares, como fosfato natural reativo. Todos os anos foi realizada análise química do fertilizante orgânico para garantir que a dose de N aplicada anualmente estivesse próxima a 100 kg ha^{-1}. Os resultados das análises revelaram, na média dos quatro anos, os seguintes valores: pH em $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1} de 8,2 (base úmida - BU), densidade de 0,7 g cm^{-3} (BU), 28,4% de umidade total, 10,7% de C orgânico (base seca 110 °C - BS), 1,3% de N total (BS), 1,0% de P total (BS); 1,1% de K total (BS); 3,0% de Ca total (BS), 0,5% de Mg total (BS), e 0,8% de S total (BS). Considerando o teor de N total e descontando a umidade do composto, a dose do produto aplicada todos os anos variou de 8 a 9 Mg ha^{-1} de fertilizante orgânico (BU).

O Ajifer® é um fertilizante organomineral líquido oriundo de processos controlados de fermentação microbiológica, sendo o subproduto da produção do aminoácido Lisina. Nesse trabalho foi aplicado o Ajifer® L-60L pois é o mais utilizado na região. Sua dose foi calculada seguindo as garantias do produto, que segundo o fornecedor são: 6,0% de N total (BU), 3,0% de S total (BU), 3,0% de C orgânico (BU), e densidade de 1,2 g cm^{-3} (BU). Assim, no campo, produto foi aplicado com auxílio de béqueres de 5,0 L previamente calibrados na dose de 100 kg ha^{-1}, levando-se em conta o teor total de N e a densidade do produto.

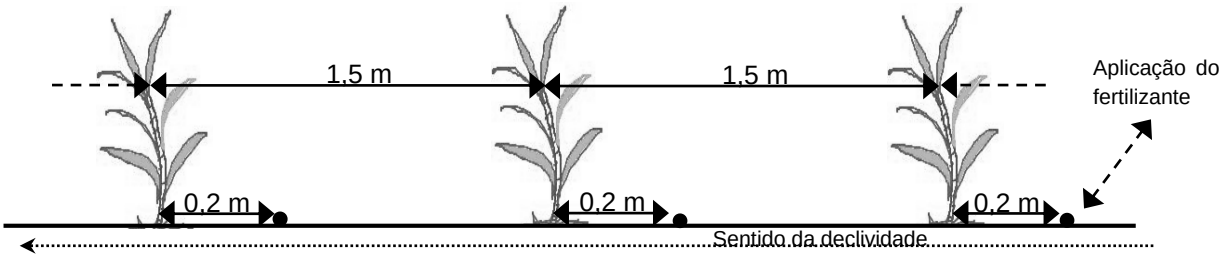

Figura 4.3 – Esquema do espaçamento entre linhas e local de aplicação dos fertilizantes

4.2.1.5 Amostragem do solo

Entre 30 e 60 dias após a colheita e antes que a adubação do próximo ciclo fosse efetuada, realizou-se a coleta de amostras de solo para fins deste estudo. Portanto, além da amostragem de solo para caracterização inicial (feita em 2010 no EA e em 2011 no EB), as amostragens de solo foram repetidas em 2011, 2012, 2013 e 2014 no EA (quatro anos de coleta) e em 2012, 2013 e 2014 no EB (três anos de coleta).

Com uma sonda foram coletadas quatro subamostras para compor uma amostra composta representativa das profundidades de 0-20 e 20-40 cm em todos os tratamentos de ambos experimentos. As subamostras foram coletadas de forma a representar o solo de cada unidade experimental, sendo coletadas a cerca de 25 cm da linha da cana-de-açúcar e próximo à linha de que recebeu o fertilizante, sempre considerando a área útil das parcelas (linhas 3, 4, 5 e 6). As amostras de solo foram mantidas em sacos plásticos devidamente identificados e em temperatura ambiente durante o transporte. No laboratório as amostras foram mantidas abertas em casa de vegetação até secagem, sendo posteriormente moídas em moinho de martelo e passadas em peneira de malha 2,0 mm.

4.2.2 Análises laboratoriais

4.2.2.1 Atributos químicos da fertilidade do solo

Em todas as amostras, coletadas nos anos de 2010, 2011, 2012, 2013 e 2014 foram realizadas análises de fertilidade do solo seguindo as metodologias descritas em Raij et al. (2001). Basicamente, as análises incluíram: pH em $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1} realizando a leitura em potenciômetro; carbono orgânico (CO), oxidação por dicromato de potássio e determinação por titulometria; pósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg), extraídos pela resina trocadora de íons e determinado por espectrofotometria (P), espectrofotometria de chama (K), e espectrofotometria de absorção atômica (Ca e Mg); Al trocável, determinado por titulometria após reação com KCl 1,0 mol L^{-1}; acidez potencial (H+Al), determinada pela leitura do pH em solução SMP; e enxofre ($S\text{-}SO_4^{-2}$), extraído com fosfato de cálcio e determinado por turbidimetria; soma de bases (SB), determinada pela soma dos teores de Ca, Mg e

K; capacidade de troca catiônica (CTC), determinada pela razão entre SB e H+Al; saturação por bases (V), determinada pela razão entre SB e CTC; saturação por Al (m), determinada pela razão entre o Al e a soma da SB com Al.

4.2.2.2 Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT)

Visando avaliar a variação da fração hidrolisável do N orgânico do solo nos dois experimentos durante o período de avaliação, foi realizada análise do Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT) conforme metodologia descrita por Khan et al. (2001) e Mulvaney et al. (2001). Uma vez que o ISNT avalia a fração N-NH_4^+ e amino-açúcares do N orgânico do solo, podendo ser afetado pela adubação nitrogenada recente, as análises foram realizadas somente nas amostras coletadas nas parcelas controle (sem adubação nitrogenada) em todos os períodos de avaliação, em ambas profundidades (0-20 e 20-40 cm).

O protocolo para realização do ISNT consiste basicamente na quantificação titrimétrica ácida (H_2SO_4 0,01 mol L^{-1}) do N-NH_4^+ capturado em solução indicadora de ácido bórico (H_3BO_3) 4% e volatilizado através da hidrólise do N-NH_4^+ + N-amino açúcares do solo pela adição de solução 2,0 mol L^{-1} de NaOH em frasco hermeticamente fechado do tipo *Mason jar* e submetido à 5 horas de aquecimento na temperatura de 54 °C em chapa aquecedora. Para reduzir as variações de temperatura nas amostras, as chapas foram alocadas dentro de caixas plásticas e os frascos rotacionados periodicamente (UNIVERSITY OF ILLINOIS, 2002; KLAPWYK; KETTERINGS, 2005). Em cada chapa aquecedora, foram dispostas onze amostras e uma amostra contendo solução de glucosamina (250 µg N mL^{-1}); quando a recuperação do N-glucosamina adicionado foi inferior a 90%, o conjunto de amostras foi analisado novamente.

4.2.2.3 Análise estatística

Cada experimento foi dividido em dois conjuntos de dados: um contendo os resultados dos tratamentos referentes às fontes de N (T0, CO, AJ, N100, NA e UR) e outro contendo os resultados dos tratamentos referentes às doses de N (T0, N50, N100, N150 e N200). Os conjuntos de dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) separadamente. Quando o teste F foi significativo na ANOVA (*P*

< 0,100), os dados qualitativos (fontes) foram comparados pelo teste de Tukey (*P* < 0,100). Para os dados quantitativos (doses) foi realizada análise de regressão, utilizando os modelos linear e quadrático.

4.3 Resultados e Discussão

A média da produtividade média de colmos nos quatro anos (2011, 2012, 2013 e 2014) avaliados no EA foi de 104 Mg ha^{-1} e de 114 Mg ha^{-1} nos três anos (2012, 2013 e 2014) avaliados no EB. Ou seja, o EB apresentou-se, em média, cerca de 10 Mg ha^{-1} superior ao EA durante o período experimental. A área do EA não apresentou resposta à adubação nitrogenada em nenhum dos anos avaliados, enquanto o EB apresentou resposta ao N em todos os anos (NASTARO, informação pessoal).

De maneira geral, todos os atributos químicos do solo mostraram efeito em pelo menos um dos fatores (fonte, dose e safra), ou quando considerada a interação safra×fonte ou safra×dose, tanto na camada 0-20 cm quanto na camada 20-40 cm. Considerando-se a similaridade dos efeitos e priorizando a sumarização dos resultados, somente serão apresentados os resultados da análise de solo obtidos em 2014, que foi fundamentado no efeito acumulativo das fontes e doses de N aplicados nas duas áreas ao longo do tempo, ou seja, quatro anos no EA e três anos no EB, aumentando assim a representatividade dos resultados.

4.3.1 Efeito das doses de N

A aplicação anual de doses de N promoveu acidificação da camada de 0-20 cm, como pode ser observado pela diminuição do pH e da saturação por bases, e correspondente aumento da saturação por alumínio nesta camada (Tabela 4.3). Além disso, houve diminuição no teor de P, K e Ca na camada de 0-20 cm, assim como diminuição do teor de K na camada 20-40 cm. No EB a adubação nitrogenada também promoveu acidificação do solo, conforme observado pela diminuição do pH e da saturação por bases, assim como aumento do H+Al, Al e saturação por alumínio na camada de 0-20 cm (Tabela 4.4). Nesta área também houve queda dos teores de K nas duas camadas avaliadas. Entretanto, diferentemente da área EA, no EB as doses de N não promoveram diminuição dos teores de Ca e Mg no solo.

Esses resultados são consequência da contínua acidificação do solo, decorrente da fertilização nitrogenada consecutiva e da exportação de nutrientes pela cana-de-açúcar (MOODY; AITKEN, 1995; HARTEMINK, 1998).

Tabela 4.3 – Resultados dos atributos químicos de 2014 demonstrando o efeito cumulativo das doses de N (quatro anos) na fertilidade do solo do experimento A

Doses de N	pH	CO	P	S	K	Ca	Mg	H+Al	Al	SB	CTC	V	m
		g dm^{-3}	mg dm^{-3}		mmol$_c$ dm^{-3}							%	
0-20 cm													
T0	4,7	10,4	10,0	4,5	2,8	7,5	4,5	23,0	2,0	14,8	37,8	39,2	12,0
NM50	4,5	10,0	11,0	5,3	2,1	10,8	4,8	25,3	3,0	17,6	42,8	41,0	15,1
NM100	4,4	10,4	5,3	4,5	1,6	12,3	6,0	25,8	2,8	19,8	45,6	42,5	13,3
NM150	4,4	10,3	8,0	5,3	1,7	9,5	4,3	25,0	2,8	15,4	40,4	38,0	15,7
NM200	4,1	9,2	5,3	5,8	1,6	7,0	3,3	32,3	4,0	11,9	44,1	27,4	25,3
P <	0,01*	0,15	0,01*	0,83	0,01*	0,04*	0,15	0,24	0,07*	0,09*	0,22	0,07*	0,03*
R^2-RL (%)	84,6	60,0	56,5	53,2	73,2	2,6	22,4	67,5	67,8	18,1	27,3	49,3	67,3
R^2-RQ (%)	85,9	79,1	56,7	59,3	97,4	94,3	78,0	78,5	69,7	92,0	48,3	97,2	86,4
20-40 cm													
T0	3,9	7,1	3,3	6,8	1,4	2,3	2,5	40,0	5,3	6,1	46,1	14,1	46,0
NM50	3,7	6,8	3,5	7,0	1,2	3,5	2,0	40,3	5,8	6,7	47,0	14,5	46,0
NM100	3,7	6,7	3,8	9,0	0,9	4,0	1,8	39,0	5,5	6,7	45,7	14,8	45,3
NM150	3,7	6,7	3,3	9,5	1,0	4,0	2,0	39,0	6,3	7,0	46,0	15,1	48,8
NM200	3,6	6,8	2,5	7,0	0,9	2,0	1,3	39,3	8,3	4,2	43,5	9,6	66,5
P <	0,25	0,96	0,98	0,21	0,03*	0,53	0,34	0,99	0,11	0,67	0,94	0,75	0,18
R^2-RL (%)	84,2	41,7	35,0	13,4	84,6	0,0	75,4	49,9	72,3	24,5	57,6	33,9	58,8
R^2-RQ (%)	87,1	99,9	96,7	65,7	92,5	94,6	75,7	60,6	92,5	82,8	85,2	80,9	93,2

* = Efeito significativo pelo teste F (*P* < 0,1); *RL* = regressão linear; *RQ* = regressão quadrática

Adicionalmente, a absorção pelas raízes das plantas dos cátions presentes na solução do solo altamente intemperizado é acompanhada da extrusão de prótons, acentuando o processo de acidificação (ARNOLD, 1992; KAZUMICHI et al., 2008).A diminuição nos teores de P, K, Ca e Mg promovidos pela adubação nitrogenada possivelmente estão relacionados à maior exportação destes nutrientes nos tratamentos com maiores doses de N. A maior disponibilidade de N mineral estimularam o crescimento e desenvolvimento da cana-de-açúcar, ao mesmo tempo em que a planta necessita de maiores quantidades de K (OLIVEIRA, 2011), já que esses dois elementos são os mais extraídos pela cultura (SILVA, 2011). Este efeito sinérgico em função da aplicação de doses de N também se relaciona com outros nutrientes como P, Ca e Mg, como relatado por Oliveira (2011).

Eventualmente o efeito da aplicação dos fertilizantes nitrogenados se estendeu abaixo da camada superficial (Tabelas 4.3 e 4.4). Isso acontece porque há

um empobrecimento desta camada do solo devido à exploração do sistema radicular da cana-de-açúcar, sem que haja uma reposição direta, ciclagem efetiva e deslocamento ou lixiviação dos cátions básicos extraídos (MOODY; AITKEN, 1995). A distribuição das raízes no perfil do solo é muito variável, a depender de fatores genéticos, climáticos e físicos e químicos do solo (VASCONCELOS; CASAGRANDE, 2010). Entretanto, apesar de existirem variações, cerca de 80% do sistema radicular da cana-de-açúcar concentra-se na camada de 0-40 cm do solo (SMITH et al., 2005), representando a camada de solo mais influenciada pela absorção de nutrientes pelas plantas.

Tabela 4.4 – Resultados dos atributos químicos de 2014 demonstrando o efeito cumulativo das doses de N (três anos) na fertilidade do solo do experimento B

Dose de N	pH	CO	P	S	K	Ca	Mg	H+Al	Al	SB	CTC	V	m
		g dm^{-3}	mg dm^{-3}		mmol$_c$ dm^{-3}							%	
0-20 cm													
T0	4,8	9,3	9,5	5,8	2,3	11,5	4,8	21,3	2,0	18,5	39,8	46,6	10,0
NM50	4,5	9,3	9,5	4,5	1,9	12,7	4,7	20,8	2,3	19,2	39,9	48,0	10,7
NM100	4,2	9,3	12,0	5,8	1,4	9,8	3,8	25,0	3,3	14,9	39,9	37,6	17,9
NM150	4,0	9,0	8,5	5,5	1,3	10,8	3,8	31,0	3,0	15,8	46,8	33,6	16,3
NM200	4,6	9,0	7,5	4,3	1,0	13,0	4,8	26,3	2,8	18,7	45,0	41,9	13,7
P <	0,01*	0,61	0,28	0,90	0,01*	0,39	0,42	0,01*	0,02*	0,31	0,03*	0,04*	0,02*
R²-RL (%)	19,9	11,0	22,3	17,4	97,9	1,6	7,4	58,9	47,1	6,2	66,5	38,9	36,1
R²-RQ (%)	80,2	42,3	63,1	24,0	99,3	38,2	66,7	63,6	80,7	50,4	67,8	58,6	71,7
20-40 cm													
T0	4,8	6,8	4,3	5,5	1,2	11,5	3,8	16,3	2,0	16,5	32,7	50,5	10,9
NM50	4,6	6,8	2,8	4,3	1,0	13,5	3,8	21,5	2,0	16,9	36,4	46,3	9,9
NM100	4,3	6,8	4,3	5,3	0,9	12,0	3,0	22,8	2,5	17,3	36,9	41,6	14,5
NM150	4,5	7,1	5,5	6,3	0,9	12,8	3,0	19,5	3,0	17,6	37,5	44,2	19,3
NM200	4,6	6,7	2,8	5,0	0,7	14,0	4,3	18,3	2,3	17,9	38,0	50,8	11,0
P <	0,27	0,97	0,27	0,31	0,05*	0,85	0,37	0,23	0,15	0,85	0,05*	0,62	0,14
R²-RL (%)	24,6	0,0	0,1	4,7	95,5	42,5	0,5	1,8	32,1	16,8	10,4	0,3	15,3
R²-RQ (%)	86,8	23,8	10,0	4,7	96,7	43,5	64,7	83,2	55,1	34,7	52,2	93,8	40,6

* = Efeito significativo pelo teste F (*P* < 0,1); *RL* = regressão linear; *RQ* = regressão quadrática

4.3.2 Efeito das fontes de N

Das fontes de N avaliadas, o composto orgânico apresenta vários outros nutrientes além de N, assim como o Ajifer, que contém, além de N, enxofre em sua composição. O Nitromag também possui 4% de Ca e 2% de Mg em sua composição. Portanto, nestes tratamentos espera-se aumento de teores dos nutrientes que fazem parte da composição destes produtos. Como esperado, o composto orgânico

aumentou os teores de P, S, K, Ca, Mg em relação à maioria das fontes avaliadas; neste mesmo sentido, o Ajifer aumentou os teores de S e o Nitromag aumento o teor de Ca e Mg, principalmente em relação ao Nitrato de Amônio, o produto mais semelhante (Tabela 4.5). Os efeitos foram mais evidentes na camada de 0-20 cm, apesar do aumento no teor de P e S proporcionado pelo composto orgânico na camada de 20-40 cm, assim como maior teor de S para o Ajifer.

As fontes de N também apresentaram efeito diferenciado nos processos de acidificação do solo. Enquanto o composto orgânico apresentou o maior pH na camada de 0-20 cm (pH = 5,1), o Ajifer apresentou o menor pH (pH = 3,7), mostrando o elevado potencial acidificante deste fertilizante, mesmo se comparado com as demais fontes nitrogenadas, nos quais o pH variou de 4,0 a 4,4 (Tabela 4.5). O composto orgânico libera radicais orgânicos no processo de decomposição capazes de complexar alumínio na solução do solo, diminuindo a acidez proporcionada pela hidrólise da água causada pelo íon Al^{3+}. O Ajifer, por sua vez, é um resíduo liquido que, além de apresentar caráter ácido, contém N preferencialmente na forma orgânica, que libera H^+ no meio após sofrer o processo de nitrificação (CANTARELLA et al., 2007).

O papel das fontes nitrogenadas no processo de acidificação fica ainda mais evidente se considerada a saturação por bases do solo (Tabela 4.5). Após quatro anos de aplicações consecutivas de composto orgânico, a saturação por bases da camada de 0-20 cm foi de 55%, bastante superior ao controle (V% = 39%) e principalmente dos demais fertilizantes nitrogenados, como Ajifer (V% = 20%), nitrato de amônio (V% = 16%) e ureia (20%), aonde a acidificação foi intensa. Como consequência, a saturação por alumínio variou de 13 a 39% nos tratamentos com fontes nitrogenadas inorgânicas e permaneceu baixa (m% = 6%) no composto orgânico. Estes resultados demonstram a importância do manejo adequado da acidez do solo em sistemas com elevados aportes de fertilizantes nitrogenados sintéticos, buscando manter a saturação por bases próxima aos valores adequados para a cultura da cana-de-açúcar, ou seja, próximo de 60% (RAIJ et al., 1997).

Na camada subsuperficial, a acidificação promovida pelos fertilizantes nitrogenados sintéticos também foi pronunciada, como pode-se observar pelos valores de saturação por bases variando de 10 a 18% nestes tratamentos; por consequência, a saturação por alumínio variou de 41 a 65%, indicando restrições severas ao desenvolvimento radicular, uma vez que valores da ordem de 30% já

começam a reduzir o crescimento radicular da maioria das culturas (RAIJ et al., 1997).

O fertilizante Nitromag recebe uma fina camada de dolomita durante o processo de granulação, conferindo teores de Ca e Mg respectivamente de 4% e 2%. Apesar dos baixos teores, observa-se que, quando comparado com o NA100, fertilizante de composição similar, observa-se aumento nos teores de Ca e Mg na camada de 0-20 cm nas parcelas que receberam Nitromag (Tabela 4.5). Como resultado, a utilização de Nitromag promoveu manutenção de valores de saturação por bases da ordem de 43% na camada 0-20 cm, bastante superior aos 16% observados nesta mesma camada para o nitrato de amônio. Este resultado permite concluir que, apesar da baixa concentração de Ca e Mg no produto, este fertilizante apresentou potencial de manutenção da saturação por bases mais adequada para o cultivo da cana-de-açúcar ao longo dos anos de aplicação.

Tabela 4.5 – Resultados dos atributos químicos de 2014 demonstrando o efeito cumulativo das fontes de N (quatro anos) na fertilidade do solo do experimento A

Fonte de N	pH	CO	P	S	K	Ca	Mg	H+Al	Al	SB	CTC	V	m
		g dm^{-3}	mg dm^{-3}			mmol$_c$ dm^{-3}						%	
						0-20 cm							
T0	4,7^{ab}	10,4	10,0^{b}	4,5^{c}	2,8^{a}	7,5^{ab}	4,5^{ab}	23,0^{d}	2,0^{c}	14,8^{bc}	37,8^{c}	39,2^{b}	12,0^{b}
CO100	5,1^{a}	10,6	17,0^{a}	15,0^{b}	2,4^{ab}	19,0^{a}	6,0^{a}	22,5^{d}	1,8^{c}	27,4^{a}	49,9^{b}	55,0^{a}	6,1^{b}
AJ100	3,7^{d}	10,9	8,5^{b}	23,3^{a}	1,7^{bc}	7,3^{ab}	3,0^{b}	49,8^{a}	6,5^{a}	12,0^{bc}	61,7^{a}	19,5^{c}	37,4^{a}
N100	4,4^{bc}	10,4	5,3^{c}	4,5^{c}	1,6^{bc}	12,3^{b}	6,0^{a}	25,8^{cd}	2,8^{bc}	19,8^{ab}	45,6^{ab}	42,5^{ab}	13,3^{b}
NA100	4,0^{cd}	9,3	9,0^{b}	5,5^{c}	1,4^{c}	3,0^{c}	2,3^{b}	37,0^{b}	4,0^{b}	6,7^{c}	43,7^{ab}	16,1^{c}	38,5^{a}
UR100	4,1^{cd}	10,9	9,0^{b}	4,8^{c}	1,6^{bc}	3,8^{c}	3,0^{b}	33,5^{bc}	3,3^{bc}	8,4^{c}	41,9^{ab}	20,1^{c}	29,8^{a}
P ≤	0,01*	0,26	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*
DMS	0,5	0,5	1,3	1,0	0,2	1,5	0,7	10,0	1,9	8,2	2,2	4,1	15,1
						20-40 cm							
T0	3,9^{b}	7,1	3,3^{b}	6,8^{b}	1,4^{ab}	2,3^{bc}	2,5^{ab}	40,0^{a}	5,3^{ab}	6,1^{b}	46,1^{a}	14,1^{b}	46,0^{a}
CO100	4,3^{a}	7,1	12,5^{a}	56,7^{a}	1,6^{a}	9,3^{a}	3,5^{a}	27,5^{b}	3,5^{b}	14,3^{a}	41,8^{bc}	34,7^{a}	20,6^{b}
AJ100	3,7^{b}	7,4	2,5^{b}	46,7^{a}	1,3^{ab}	5,3^{ab}	1,8^{b}	37,0^{ab}	7,5^{a}	8,3^{b}	45,3^{ab}	18,4^{b}	47,2^{a}
N100	3,7^{b}	6,7	3,8^{b}	9,0^{b}	0,9^{b}	4,0^{bc}	1,8^{b}	39,0^{a}	5,5^{ab}	6,7^{b}	45,7^{ab}	14,8^{b}	45,3^{a}
NA100	3,8^{b}	8,0	2,5^{b}	7,8^{b}	1,2^{ab}	1,3^{bc}	1,5^{b}	33,8^{ab}	6,3^{ab}	3,9^{b}	37,7^{bc}	10,8^{b}	61,2^{a}
UR100	3,9^{b}	7,1	4,5^{b}	7,8^{b}	1,0^{b}	1,0^{c}	1,8^{b}	31,0^{ab}	5,8^{ab}	3,8^{b}	34,8^{c}	11,1^{b}	59,1^{a}
P ≤	0,01*	0,41	0,01*	0,01*	0,03*	0,01*	0,01*	0,02*	0,05*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*
DMS	0,1	1,6	1,6	10,7	0,5	4,1	1,5	10,4	3,2	5,7	8,4	12,5	24,1

* = Efeito significativo pelo Teste F (*P* < 0,1); *DMS* = diferença mínima significativa pelo teste de Tukey (*P* < 0,100)

O solo do EB apresentou comportamento muito similar ao solo do EA em relação aos efeitos das fontes nitrogenada na fertilidade do solo (Tabela 4.6). Ou

seja, assim como no EA, os fertilizantes nitrogenados promoveram acidificação do solo, como pode ser observado pela diminuição do pH, aumento dos teores de alumínio e diminuição da saturação por bases (Tabela 4.6). Semelhantemente, o Ajifer foi o fertilizante que mais promoveu acidificação do solo, demonstrando ser um fertilizante com alto índice de acidificação do solo. Ou seja, seu uso contínuo requer constante monitoramento da fertilidade do solo para que aplicações de corretivos sejam realizadas para manutenção da fertilidade do solo.

O solo do EB apresentou maiores valores de pH, saturação por bases e menor saturação de Al quando comparados com o solo do EA, especialmente na camada de 20-40 cm (Tabela 4.6). Menor acidificação em camadas mais profundas pode ter permitido que o sistema radicular explorasse maior volume de solo nesta área. Esta pode ser uma das razões para a maior produtividade média obtida nesta área (114 Mg ha^{-1}) em relação à EA (104 Mg ha^{-1}), principalmente se considerado que em ambas as áreas os canaviais apresentavam a mesma idade. Efeito positivo de melhores condições químicas em subsuperfície para produtividade da cana-de-açúcar já foram observados por Maule et al. (2001).

Tabela 4.6 – Resultados dos atributos químicos de 2014 demonstrando o efeito cumulativo das fontes de N (três anos) na fertilidade do solo do experimento B

Fonte de N	pH	CO	P	S	K	Ca	Mg	H+Al	Al	SB	CTC	V	m
		g dm^{-3}	mg dm^{-3}		mmol$_c$ dm^{-3}							%	
						0-20 cm							
T0	4,8^{b}	9,3	9,5^{b}	5,8^{b}	2,3^{a}	11,5^{b}	4,8^{b}	21,3^{bc}	2,0^{c}	18,5^{b}	39,8	46,6^{b}	10,0^{cd}
CO100	5,3^{a}	9,5	38,7^{a}	13,0^{a}	2,2^{a}	17,5^{a}	8,0^{a}	16,3^{c}	2,0^{c}	27,7^{a}	43,9	63,1^{a}	6,8^{d}
AJ100	3,9^{c}	9,3	7,3^{b}	14,5^{a}	1,1^{b}	8,0^{b}	4,5^{b}	29,8^{ab}	4,5^{a}	13,6^{b}	43,3	31,4^{c}	26,5^{a}
N100	4,2^{c}	8,3	12,0^{b}	5,8^{b}	1,4^{ab}	9,8^{b}	3,8^{b}	25,0^{abc}	3,3^{bc}	14,9^{b}	39,9	37,6^{bc}	17,9^{abc}
NA100	4,0^{c}	9,0	9,5^{b}	5,8^{b}	1,7^{ab}	7,3^{b}	3,5^{b}	33,0^{a}	3,5^{b}	12,4^{b}	45,4	27,7^{c}	22,4^{ab}
UR100	4,2^{c}	9,3	7,0^{b}	4,8^{b}	1,4^{ab}	9,8^{b}	4,5^{b}	28,8^{ab}	2,8^{bc}	15,6^{b}	44,4	34,5^{bc}	16,1^{bc}
P ≤	0,01*	0,31	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*	0,52	0,01*	0,01*
DMS	0,5	1,5	7,5	6,6	1,0	1,4	2,1	9,8	1,2	7,1	9,8	14,0	8,8
						20-40 cm							
T0	4,8^{a}	6,8	4,3^{ab}	5,5^{b}	1,2^{a}	11,5	3,8^{bc}	16,3^{b}	2,0	16,5	32,7^{ab}	50,5^{a}	10,9^{b}
CO100	4,8^{a}	6,8	7,3^{a}	9,3^{ab}	1,1^{ab}	12,3	5,3^{a}	20,0^{ab}	2,0	18,6	38,6^{ab}	48,2^{ab}	9,8^{b}
AJ100	4,1^{c}	7,0	2,3^{b}	15,0^{a}	0,7^{b}	10,3	3,3^{bc}	25,0^{a}	2,8	14,2	39,2^{a}	36,3^{b}	17,0^{a}
N100	4,3^{bc}	6,8	4,3^{ab}	5,3^{b}	0,9^{ab}	12,0	3,0^{c}	22,8^{ab}	2,5	15,9	38,7^{ab}	41,6^{ab}	14,5^{ab}
NA100	4,6^{ab}	6,6	4,8^{ab}	5,8^{b}	0,9^{ab}	10,5	3,3^{bc}	17,5^{b}	2,0	14,6	32,1^{b}	45,4^{ab}	12,2^{ab}
UR100	4,8^{a}	3,8	4,0^{ab}	4,0^{b}	0,7^{b}	13,3	4,5^{ab}	16,3^{b}	2,0	18,5	34,7^{ab}	53,1^{a}	9,9^{b}
P ≤	0,01*	0,88	0,08*	0,01*	0,02*	0,54	0,01*	0,01*	0,04*	0,18	0,01*	0,01*	0,01*
DMS	0,4	1,2	4,1	5,8	0,5	4,7	1,4	7,0	0,8	5,6	6,7	12,7	5,9

* = Efeito significativo pelo Teste F (*P* < 0,1); *DMS* = diferença mínima significativa pelo teste de Tukey (*P* < 0,100)

4.3.3 Efeitos da adubação nitrogenada ao longo do tempo

Observou-se no EA que os tratamentos diferiram em termos de pH em todos os anos de avaliação (Figura 4.3), tanto na camada de 0-20 cm quanto na camada de 20-40 cm. Houve aplicação de 2,0 Mg ha^{-1} de calcário no solo logo após a adubação realizada em 2011; ou seja, o aumento nos valores de pH do solo nos anos de 2012, 2013 e 2014 são explicados pela reação do calcário no solo, especialmente na camada de 0-20 cm. Entretanto, é possível observar que as doses de N promoveram maior acidificação no solo (Figura 4.3). Considerando o pH inicial do solo no momento da implantação dos experimentos (linha horizontal na Figura 4.3), observa-se que houve diminuição do pH tanto na camada de 0-20 cm quanto na de 20-40 cm; a acidificação foi intensificada pelo uso de elevadas doses de N.

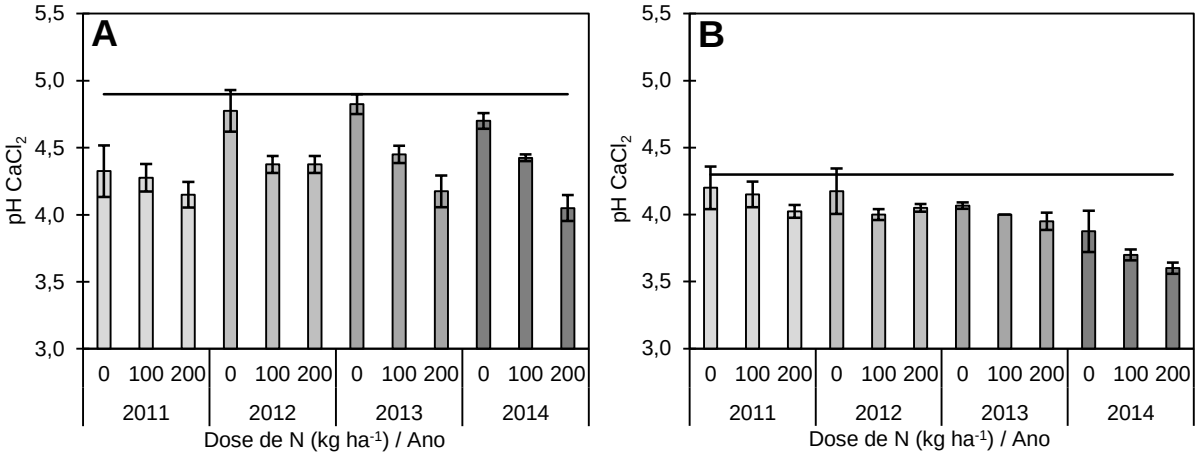

Figura 4.3 – Variação anual do pH nas camadas de 0-20 cm (**A**) e 20-40 cm (**B**) para os tratamentos com 0 (controle), 100 e 200 kg ha^{-1} ano^{-1} de N da fonte Nitromag no experimento A. A linha horizontal destaca o valor inicial de pH do solo na instalação do experimento (2010). As barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Houve aumento significativo no teor de K no solo ao longo dos anos de estudo (Figura 4.4), principalmente na camada de 0-20 cm; o aumento foi mais pronunciado nas parcelas controle (sem N). Ou seja, a adubação nitrogenada promoveu diminuição nos teores de K no solo ao longo dos anos. Isso é pela maior absorção e exportação de K nas parcelas adubadas (OLIVEIRA, 2011), resultando em menores teores na análise de solo. Na camada de 20-40 cm, apesar do aumento no teor ao longo do tempo, este não foi suficiente para que o teor, ao final do

experimento, atingisse o nível inicial de K no solo (Figura 4.4), indicando empobrecimento da fertilidade do solo para K.

O aumento no teor de K evidenciado principalmente na camada de 0-20 cm (Figura 4.4) pode ser explicado pela ciclagem do K dos resíduos culturais da palhada que permanecem no solo em sistemas de cana-de-açúcar sob colheita sem prévia queima. A quantidade de potássio acumulada na palhada é muito variável em função da variedade, teor de K no solo e produtividade obtida, podendo variar de 35 a 170 kg ha^{-1} de K (FORTES et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2002).

A adubação potássica anual realizada na área, de 85 kg ha^{-1} ano^{-1} de K_2O, provavelmente contribuiu para a manutenção da fertilidade do solo em termos de K, porém certamente não foi suficiente para suprir toda a demanda da planta, uma vez que a cana-de-açúcar extrai cerca de 174 kg de K_2O por 100 Mg de colmos (ORLANDO-FILHO et al., 1980). Ou seja, a quantidade de K presente na palhada possivelmente foi liberada dos resíduos culturais (FORTES et al., 2012; TRIVELIN et al., 2013), contribuindo para aumento dos teores de K do solo evidenciados neste solo.

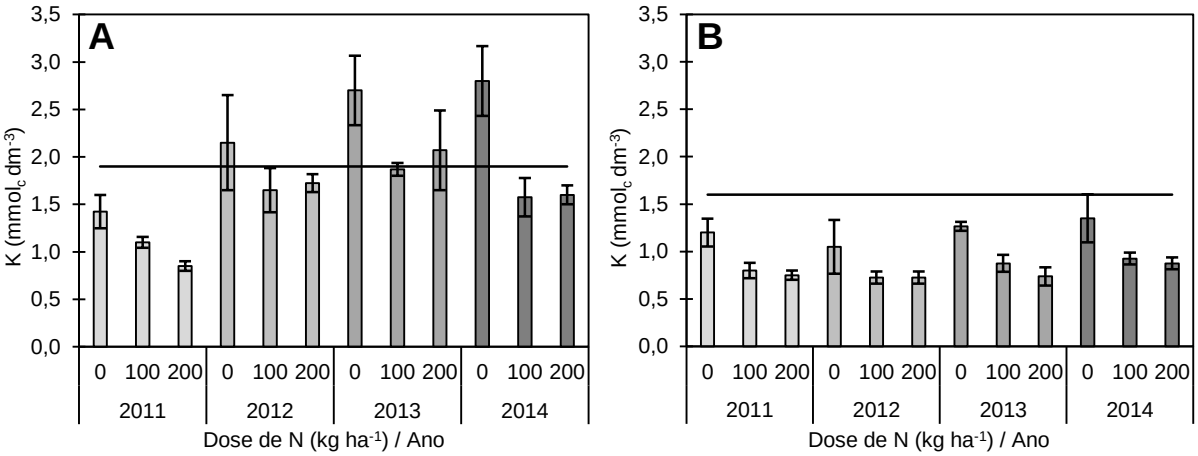

Figura 4.4 – Variação anual do teor de K nas camadas de 0-20 cm (**A**) e 20-40 cm (**B**) para os tratamentos com 0 (controle), 100 e 200 kg ha^{-1} ano^{-1} de N da fonte Nitromag no experimento A. A linha horizontal destaca o valor inicial do teor de K do solo na instalação do experimento (2010). As barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

No solo do EB, diferentemente do solo do EA, não houve queda significativa do pH do solo nas camadas de 0-20 e 20-40 cm nos dois primeiros anos (2012 e 2013) (Figura 4.5). Este comportamento pode estar relacionado à aplicação de 2,0 Mg ha^{-1} de calcário no ano de 2011, ou seja, anteriormente à implantação do

experimento. O calcário tem uma reação lenta no solo e, além disso, o poder tampão do solo pode ter favorecido a manutenção do pH do solo ao longo dos dois primeiros anos do estudo. Entretanto, no terceiro ano do experimento (2014), observa-se queda no pH do solo tanto na camada 0-20 cm quanto 20-40 cm, indicando que o efeito residual do calcário, assim como o tamponamento do solo podem ter se esgotado.

Neste solo, o aumento da dose de 100 para 200 kg ha^{-1} de N não promoveu maior acidificação do solo, diferentemente do observado para o solo do EA. Este pode também ser um indicativo de maior poder tampão deste solo em relação ao anterior, o que pode ser confirmado pela manutenção do pH inicial do solo durante praticamente todos os anos de estudo (Figura 4.5).

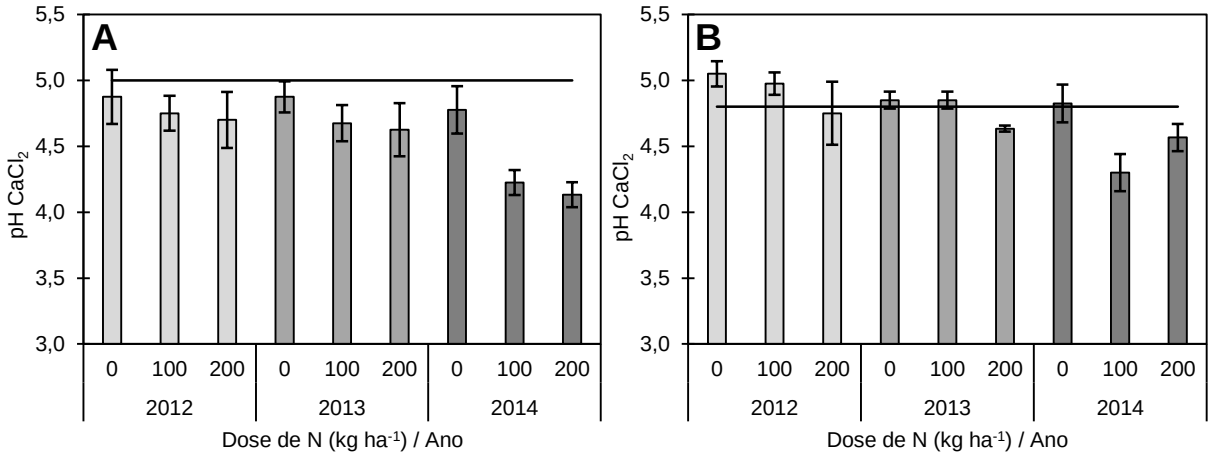

Figura 4.5 – Variação anual do pH nas camadas de 0-20 cm (**A**) e 20-40 cm (**B**) para os tratamentos com 0 (controle), 100 e 200 kg ha^{-1} ano^{-1} de N da fonte Nitromag no experimento B. A linha horizontal destaca o valor inicial de pH do solo na instalação do experimento (2011). As barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

No solo do EB, diferentemente do solo do EA, não houve aumento no teor de K no solo durante os anos de estudo; pelo contrário, observou-se diminuição dos teores na camada de 0-20 cm (Figura 4.6). Esta diminuição foi ainda mais intensa nas parcelas que receberam 100 e 200 kg ha^{-1} ano^{-1} de N, indicando maior exportação de K nas parcelas adubadas com N. Este comportamento também foi observado na área EA e no estudo de Oliveira (2011).

A diminuição dos teores de K na camada de 0-20 cm nesta área ao longo dos anos pode ser explicada pela maior produtividade obtida nesta área (cerca de 10 Mg ha^{-1} ano^{-1} superior em relação ao EB), que certamente promoveu maior exportação

de K_2O pelos colmos, conforme também verificado por Oliveira (2011). Esta evidência é válida se considerada que em ambas as áreas a adubação potássica anual foi semelhante, ou seja, 85 kg ha^{-1} ano^{-1} de K_2O. Perdas de K_2O por lixiviação também pode ser considerada, entretanto é muito pouco provável que as áreas tenham apresentado diferenças em termos de lixiviação de K, se considerada as características semelhantes do solo nas duas áreas e ainda que, devido à pequena distância entre os experimentos, possivelmente a distribuição de chuvas tenha sido semelhante.

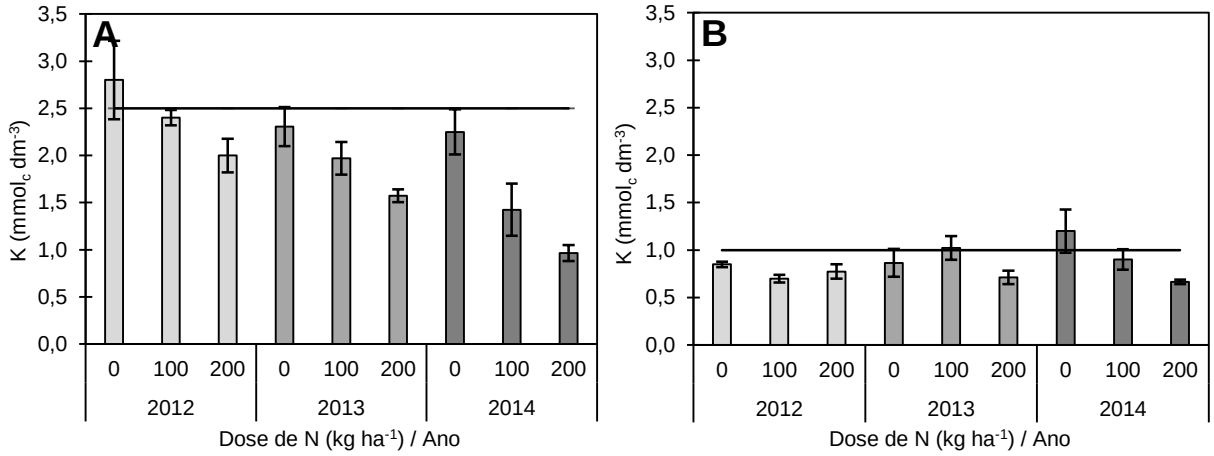

Figura 4.6 – Variação anual do teor de K nas camadas de 0-20 cm (**A**) e 20-40 cm (**B**) para os tratamentos com 0 (controle), 100 e 200 kg ha^{-1} ano^{-1} de N da fonte Nitromag no experimento B. A linha horizontal destaca o valor inicial do teor de K do solo na instalação do experimento (2011). As barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

A hipótese deste estudo, de que o aumento da adubação nitrogenada em áreas sob colheita de cana-de-açúcar sem prévia queima irá promover maior acidificação do solo, foi aceita. Esta evidência pôde ser observada nas duas áreas, tanto avaliando-se o efeito das doses de N no ano seguinte à adubação (Tabelas 4.3 e 4.4) quanto a avaliação dos teores de K na análise de solo ao longo dos anos de estudo (Figuras 4.4 e 4.6).

Por outro lado, a hipótese de que a colheita mecanizada da cana-de-açúcar, com manutenção da palhada sobre o solo irá promover aumento do teor de K no solo, foi parcialmente aceita. Em áreas com menor produtividade e reposição do K por meio da adubação de soqueira, observou-se aumento dos teores de K no solo ao longo do tempo (Figura 4.4). Entretanto, em área com produtividade elevada, promovendo maior exportação de K pelos colmos, pode observar-se decréscimo dos

teores de K na análise de solo se a adubação de soqueira não for suficiente para repor a quantidade exportada de K_2O pelos colmos.

Portanto, justifica-se a adubação de soqueira de cana-de-açúcar considerando, além do teor na análise de solo, a produtividade esperada, conforme já preconizado pelos boletins oficiais de adubação no Estado de São Paulo (RAIJ et al., 1997). Estes resultados também evidenciam que a prática de remoção de palha para produção de energia ou etanol celulósico, conforme vem sendo preconizado recentemente (CANTARELLA et al., 2013), pode levar à diminuição do teor de K na análise de solo a longo prazo.

4.3.4 Variação da fração hidrolisável do N orgânico do solo

A fração N-aminoaçúcares é considerada uma fração lábil da matéria orgânica do solo e pode ser utilizada como indicativo de responsividade do solo à adubação nitrogenada (MULVANEY et al., 2001), podendo ser avaliada pelo método do ISNT (KHAN et al., 2001). Nesse sentido, considerando a ausência de resposta à adubação nitrogenada no EA e resposta positiva à adição de N no EB (NASTARO, informação pessoal), era de se esperar maiores teores de N-ISNT no solo do EA. Conforme o esperado, o solo da EA apresentou maiores teores de N-ISNT tanto na camada de 0-20 cm quanto na de 20-40 cm comparativamente ao solo do EB (Tabela 4.6), auxiliando a explicar a baixa responsividade à adubação nitrogenada obtida na área EA em anos consecutivos.

Outro comportamento esperado é a diminuição do teor de N-ISNT em locais que não recebem adubação nitrogenada ao longo dos anos, devido à diminuição do estoque de frações orgânicas lábeis da MOS. Os resultados deste estudo indicaram haver diminuição dos teores de N-ISNT na camada superficial do solo do EA (Tabela 4.6). Pode estar ocorrendo mineralização das frações lábeis do N orgânico, que posteriormente estão sendo absorvidas pela cana-de-açúcar nesta área; espera-se, ao longo do tempo, que as frações mais facilmente mineralizáveis se esgotem e esta área passe a apresentar resposta a adubação nitrogenada. Por outro lado, esta tendência não foi observada no EB (Tabela 4.6), ou seja, não houve diminuição das frações de N-ISNT ao longo dos anos. No caso do solo do EB, apesar de apresentar teor semelhante de MOS quando comparado ao solo do EA, os baixos teores de N-ISNT podem estar associados às frações recalcitrantes da MOS, o que justifica a

resposta à adubação nitrogenada nesta área. Ou seja, somente a mineralização da MOS não está sendo suficiente para suprir a demanda da cana-de-açúcar de N, ocorrendo resposta ao N-fertilizante adicionado.

Tabela 4.7 – Variação anual do teor de N hidrolisável (N-ISNT) do solo nas parcelas controle (sem adubação nitrogenada) de ambos os experimentos nos anos de 2012, 2013 e 2014

Ano	Experimento A		Experimento B	
	0-20 cm	20-40 cm	0-20 cm	20-40 cm
	(mg kg^{-1})			
2012	112,25 a	87,47	89,28	73,74
2013	110,91 ab	86,95	85,40	71,24
2014	103,18 b	85,57	88,42	70,98
P ≤	0,06*	0,94	0,40	0,63
DMS	7,9	14,5	7,0	7,7
CV	4,0	9,4	4,5	6,0

* = Efeito significativo pelo Teste de Tukey (*P* < 0,01); *DMS* = diferença mínima significativa pelo teste de Tukey; *CV* = coeficiente de variação (%)

Apesar de Mariano (2015) não ter encontrado resultados positivos em relação à capacidade do N-INST em predizer o potencial de resposta à adubação nitrogenada em cana-de-açúcar, Otto et al. (2013), também trabalhando com solos cultivados com cana-de-açúcar, observou resultados mais promissores. No trabalho de Otto et al. (2013), solos que haviam sido manejados com plantio de leguminosas em rotação, assim como solos que apresentaram uso de resíduos orgânicos no passado, apresentaram maiores teores de N-ISNT e resposta limitada ou nula à adubação nitrogenada. Estas evidências podem auxiliar no entendimento da falta de resposta ao N observada em anos consecutivos no EA, uma vez que além de tratar-se de área com histórico de aplicação de vinhaça, foi realizado o plantio de leguminosa (amendoim) no momento da implantação do canavial. Ou seja, os resultados aqui reportados, assim como outros da literatura, apresentam evidências de que áreas com histórico de uso de resíduos orgânicos ou rotação com leguminosas apresentam baixa responsividade à adubação nitrogenada, mesmo em anos consecutivos.

4.4 Conclusões

O aumento das doses de N em sistemas de cana-de-açúcar sob colheita sem prévia queima potencializa a acidificação da camada superficial do solo em anos

consecutivos, assim como promove diminuição dos teores de K no solo, tanto em superfície como em subsuperfície.

A aplicação de fertilizante organomineral compostado foi mais efetiva do que fertilizantes minerais na manutenção da fertilidade do solo e diminuição da acidificação ao longo dos anos.

A aplicação de fertilizante organomineral fluído é a fonte que mais promoveu acidificação do solo, tanto em superfície quanto em subsuperfície.

O método ISNT de determinação da fração lábil da matéria orgânica mostrou-se sensível na correlação da responsividade à adubação nitrogenada nas duas áreas cultivadas com cana-de-açúcar ao longo das safras.

Referências

ALABAN, R.A.; BARREDO, F.C.; AGUIRRE, A.L. An assessment of some indicators and determinants of farm productivity and soil fertility in the VMC district: trends, associations, interactions 1969–1990. **Proceedings of the Philippine Sugar Technologists**, Iloilo, v. 37, p. 64-83, 1990.

ALMEIDA JUNIOR, A.B.; NASCIMENTO, C.W.A.; SOBRAL, M.F.; SILVA, F.B.V.; GOMES, W.A. Fertilidade do solo e absorção de nutrients em cana-de-açúcar fertilizada com torta de filtro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, p. 1004-1015, 2011.

ALVARENGA, R.C.; COSTA, L.M.; MOURA FILHO, W.; REGAZZI, A.J. Características de alguns adubos verdes de interesse para a conservação e recuperação de solos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasilia, v. 30, p. 175-185, 1995.

AMBROSANO, E.J.; ROSSI, F.; GUIRADO, N.; AMBROSANO, G.M.B.; SCHAMMASS, E.A.; CANTARELLA, H.; MURAOKA, T.; CAMARGO, L.F.; MOTA, B. Adubos verdes e amendoins cultivados em rotação com cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 4, p. 509-512, 2009.

ARAUJO, A.M.S.; SAMPAIO, E.V.S.B.; SALCEDO, I.H. Mineralização do C e do N em amostras armazenadas de solo cultivado com cana-de-açúcar, ao longo de dez anos, com e sem fertilização nitrogenada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, p. 43-53, 2001.

ARNOLD, G. Soil acidification as caused by nitrogen uptake pattern of scots pine (Pinus-Sylvestris). **Plant and Soil**, The Hague, v. 142, p. 41-51, 1992.

CANELLAS, L.P.; VELLOSO, A.C.X.; MARCIANO, C.R.; RAMALHO, J.F.G.P.; RUMJANEK, V.M.; REZENDE, C.E.; SANTOS, G.A. Propriedades químicas de um cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhiço e adição de

vinhaça por longo tempo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 935-944, 2003.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C. Nitrogênio e enxofre na cultura da cana-de-açúcar. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S. e; VITTI, G.C. **Nitrogênio e Enxofre na Agricultura Brasileira**. Piracicaba: IPNI, 2007. cap. 11, p. 355-392.

CARNAÚBA, B.A.A. O nitrogênio e a cana-de-açúcar. **STAB. Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 8, p. 24-39, 1990.

DEMATTÊ, J.L.I. Cultura da cana-de-açúcar. Recuperação e manutenção da fertilidade dos solos. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 111, p. 1-24, set. 2005.

FORTES, C.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C. Long Term decomposition of sugarcane harvest residues in Sao Paulo State Brazil. **Biomass Bioenergy**, Amsterdam, v. 42, p. 189-198, 2012.

GHIBERTO, P.J.; LIBARDI, P.L.; TRIVELIN, P.C.O. Nutrient leaching in an Ultisol cultivated with sugarcane. **Agricultural and Water Management,** Amsterdam, v. 31, p. 141–149, 2015.

HARTEMINK, A.E. Acidification and pH buffering capacity of alluvial soils under sugarcane. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 34, p. 231–243, 1998a.

HARTEMINK, A.E. Changes in soil fertility and leaf nutrient concentration at a sugar cane plantation in Papua New Guinea. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Oxford, v. 29, p. 1045–1060, 1998b.

HARTEMINK, A.E. Soil chemical and physical properties as indicators of sustainable land management under sugar cane in Papua New Guinea. **Geoderma**, Amsterdam, v. 85, p. 283–306, 1998c.

KAUR, K.; KAPOOR, K.K.; GUPTA, A.P. Impact of organica manures with and without mineral fertilizers on soil chemical and biological properties under tropical conditions. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Malden, v. 168, p. 117-122, 2005.

KAZUMICHI, F.; FUNAKAWA, S.; HAYAKAWA, C.; KOSAKI, T. Contribution of different proton sources to pedogenetic soil acidification in forested ecosystems in Japan. **Geoderma,** Amsterdam, v. 144, p. 478-490, 2008.

KHAN, S.A.; MULVANEY, R.L.; HOEFT, R.G. A simple soil test for detecting sites that are nonresponsive to nitrogen fertilization. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 1751-1760, 2001.

KLAPWYK, J.H.; KETTERINGS, Q.M. Reducing analysis varianility of the Illinois Soil Nitrogen Test with enclosed griddles. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 69, p. 1129-1134, 2005.

KOWALENKO, C.G. Changes in soil extractable sulphate under field fallow conditions after application of three contrasting sulphur fertilizers. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 89, p. 501-510, 2009.

LUCAS, R.E.; DAVIS, J.F. Relationship between pH values of organic soils and availability of 12 plant nutrients. **Soil Science**, Oxford, v. 92, p. 177-182, 1961.

MARIANO, E.; LEITE, J.M.; MEGDA, M.X.V.; TORRES-DORANTE, L.; TRIVELIN, P.C.O. Influence of nitrogen form supply on soil mineral nitrogen dynamics, nitrogen uptake, and productivity of sugarcane. **Agronomy Journal,** Madison, v. 107, p. 641-650, 2015.

MASILACA, A.S.; PRASAD, R.A.; MORRISON, R.J. The impact of sugarcane cultivation on three Oxisols from Vanua Levu. **Tropical Agriculture**, Fiji, v. 63, p. 325–330, 1985.

MAULE, R.F.; MAZZA, J.A.; MARTHA JUNIOR, G.B. Produtividade agrícola de cultivares de cana-de-açúcar em diferentes solos e época de colheita. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, p. 295-301, 2001.

MEIER, E.A.; THORBURN, P.J.; WEGENER, M.K.; BASFORD, K.E. The availability of nitrogen from sugarcane trash on contrasting soils in the wet tropics of North Queensland. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Amsterdam, v. 75, p. 101-114, 2006.

MENDONZA, H.N.S.; LIMA, E.; ANJOS, L.H.C.; SILVA, L.A.; CEDDIA, M.B.; ANTUNES, M.V.M. Propriedades químicas e biológicas de um solo de tabuleiro cultivado com cana-de-açúcar com e sem queima da palhada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 201-207, 2000.

MOODY, P.W.; AITKEN, R.L. Soil acidification and lime use in some agricultural systems in Queensland. In: DATE, R.A.; GRUNDON, N.J.; RAYMENT, G.E.; PROBERT, M.E. **Plant soil interactions at low pH**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1995. p. 749-752.

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

NG CHEONG, L.R.; NG KEE KWONG, K.F.; AH KOON, P.D.; DU PREEZ, C.C. Influence of sugarcane cropping on the quality of na oxisol and na inceptsol in Mauritius. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Oxford, v. 41, p. 1205-1219, 2010.

OLIVEIRA, E.C.A.; FREIRE, F.J.; OLIVEIRA, R.I.; FREIRE, M.B.G.S.; SIMÕES NETO, D.E.; SILVA, S.A.M. Extração e exportação de nutrientes por variedades de cana-de-açúcar cultivadas sob irrigação plena. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, p. 1343-1352, 2010.

OLIVEIRA, M.W.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; PENATTI, C.P. Degradação da palhada de cana-de-açúcar. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, p.803-809, 1999.

OLIVEIRA, M.W.; TRIVELIN, P.C.O.; KINGSTON, G.; BARBOSA, M.H.P.; VITTI, A.C. Decomposition and release of nutrients from sugarcane trash in two agricultural environments in Brazil. In: CONFERENCE OF THE AUSTRALIAN SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 24., 2002, Cairns. **Proceedings…** Cairns: Australian Society of Sugar Cane Technologists, 2002. p. 1-10.

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

OTTO, R.; MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A.; TRIVELIN, P.C.O. Quantifying soil nitrogen mineralization to improve fertilizer nitrogen management of sugarcane. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 49, p. 893–904, 2013.

PRADO, R.M.; FERNANDES, F.M.; NATALE, W. Calcário e escória de siderurgia avaliados por análise foliar, acúmulo e exportação de macronutrientes em cana-de-açúcar. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, p. 129-135, 2002.

PROTOCOLO AGROAMBIENTAL DO SETOR SUCROENERGÉTICO. **Relatório consolidado 2007/08 – 2013/14.** 2014. Disponível em: <http://www.ambiente.sp.gov.br/etanolverde/files/2015/02/Protocolo-Agroambiental-do-Setor-Sucroenerg%C3%A9tico-Relat%C3%B3rio-consolidado-RV.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2015.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; TAVARES, S.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais.** Campinas: Instituto Agronômico, 2001. 285 p.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; TAVARES, S.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agronômico, 1997. 285 p. (IAC. Boletim Técnico, 100).

ROBERTSON, F.A.; THORBURN, P.J. Management of sugarcane harvest residues: consequences for soil carbon and nitrogen. **Australian Journal of Soil Research,** Melbourne, v. 45, p. 13-23, 2007.

ROSSETO, R.; DIAS, F.L.F.; VITTI, A.C. Fertilidade do solo, nutrição e adubação. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico, 2010. cap. 9, p. 221-238.

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

ROWELL, D.L.; WILD, A. Causes of soil acidification: a summary. **Soil Use and Management,** Malden, v. 1, p. 32-33, 1985.

SCHROEDER, B.L.; ROBINSON, J.B.; WALLACE, M.; TURNER, P.E.T. Soil acidification: occurrence and effects in the South African sugar industry. **Australian Society of Sugar Cane Technology**, Brisbane, v. 10, p. 70-74, 1994.

SILVA, G.M.A. Controlar custo para aumentar renda. **Agroanalysis**, São Paulo, n. único, p. 16-19, 2006.

SILVA, L.C. **Análise de crescimento e acúmulo de nutrients de sete cultivares de cana-de-açúcar na Região de Curiripe**. 2007. 80 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2007.

TRIVELIN, P.C.O., FRANCO, H.C.J., OTTO, R., FERREIRA, D.A., VITTI, A.C., FORTES, C., FARONI, C.E., OLIVEIRA, E.C.A., CANTARELLA, H. Impact of sugarcane trash on fertilizer requirements for São Paulo, Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, p. 345-352, 2013.

UNIVERSITY OF ILLINOIS. **The Illinois soil nitrogen test for amino sugar-N: estimation of potentially mineralizable soil N and ^{15}N.** Urbana, 2002. 6 p. (Tecnical Note, 02-01).

VASCONCELOS, A.C.M. **Comportamentos de clones IAC e variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) nas condições edafoclimáticas da região do Vale do Paranapanema**. 1998. 108 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 1998.

VASCONCELOS, A.C.M.; CASAGRANDE, A.A. Fisiologia do Sistema radicular. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico, 201o. cap. 4, p. 79-97.