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

**Transformações do nitrogênio no solo e a resposta da cana-planta
à adubação nitrogenada em função da rotação com crotalária**

Greice Leal Pereira

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

**Piracicaba
2015**

Greice Leal Pereira
Engenheira Agrônoma

**Transformações do nitrogênio no solo e a resposta da cana-planta à adubação
nitrogenada em função da rotação com crotalária**

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

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

**Piracicaba
2015**

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

Pereira, Greice Leal

Transformações do nitrogênio no solo e a resposta da cana-planta à adubação nitrogenada em função da rotação com crotalária / Greice Leal Pereira. - - Piracicaba, 2015.

77 p. : il.

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

1. *Crotalaria juncea* 2. Adubo verde 3. Nutrição de plantas 4. *Saccharum spp* 5. Fixação biológica de nitrogênio 6. ISNT I. Título

CDD 633.61
P227t

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

*À **Benedito**, meu avô (in memoriam), por tudo que significa para mim.*

Dedico

*À **Erany** e **Leonel**, meus pais, por todos os valores, ensinamentos, dedicação, incentivo e por nunca medirem esforços e sacrifícios para a realização dos meus sonhos.*

*Aos meus irmãos, **Karina**, **Roberto**, **Wagner**, **Richard** e **Emerson** por todo incentivo e apoio.*

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente a Deus, por ter me dado força e perseverança para jamais desistir dos meus objetivos frente aos obstáculos.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, de maneira especial ao Departamento de Ciência do Solo, que me concederam a oportunidade para a realização do curso de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Rafael Otto, pela orientação exemplar e pelos valiosos ensinamentos, paciência e apoio em todas as etapas deste trabalho.

Agradeço a banca de defesa pelas considerações e sugestões da presente dissertação.

À Usina Iracema, pela concessão da área de estudos.

Ao Renato Françoso, Rafael Lima e, especialmente ao Alex Henrique Vareda, que foram essenciais em todas as etapas do projeto.

Aos meus amigos, Beatriz Nastaro, Aijânio Brito, Thales Satollo, Saulo Castro, Letícia Faria, Eduardo Zavaschi, Edson Mota, Fábio Toledo, Marisol Miranda, Caroline Jimenez, Sarah Tenelli, Acácio Mira, Bruna Botin, Ana Correr, Anna Rita, Ana Paula Teles, Bruna Arruda, Italo Kaye, Marina Justi, Taís Almeida, Rafaela Conz, Dener Oliveira, Valdevan Santos, Marcos Rodrigues, pelos momentos de alegria e apoio em qualquer dificuldade. Muito obrigada pelos dois anos de convívio saudável, cheio de trabalho, risos e companheirismo.

Ao Eric Victor, grande amigo, pela parceria, incentivo, ajuda e contribuições.

Aos meus amigos da UFV, que mesmo de longe estiveram presentes me apoiando.

Aos amigos do Grupo de Apoio à Pesquisa e Extensão (GAPE), Bianca Machado (Bráci-k), Ana Carolina Duarte (Fléqs), Matheus Nirschl (Gir), Matheus Fernandes (Bota-Traiz), Pedro Antonelli (Já-d), Marcos Gomes (Al π no), José Vieira (Z´-(lé)²), Gabriel Anastácio (Parecido), Kaue Tonelli (Bãozin), Gerson Netto (Safena), Edmur Gonzaga (Izaura) e Heitor Zerbini (Chu-Chei) pela ótima convivência, pela oportunidade de troca de conhecimento e aprendizado.

Aos técnicos Cleuza (Nutrição Mineral de Plantas/Cena) e Fernando (Microbiologia do Solo), pela incansável ajuda, ensinamentos e atenção.

Aos Professores Fernando Andreotti, José Junior Lavres e Godofredo Cesar Vitti, por todo auxílio prestado.

À professora Renata Alcarde, pelo suporte e pela disposição em me ajudar.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão de mais essa etapa.

EPÍGRAFE

*“Por vezes sentimos que aquilo
que fazemos não é senão uma
gota de água no mar. Mas o
mar seria menor se lhe
faltasse uma gota”.*

Madre Teresa de Calcutá

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 A cana-de-açúcar e sua importância econômica.....	17
2.2 Nitrogênio na cana-de-açúcar	18
2.3 Adubação verde na cana-de-açúcar	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Caracterização da área experimental.....	25
3.2 Instalação e condução do experimento.....	28
3.3 Delineamento experimental e tratamentos	28
3.4 Avaliações no solo	29
3.4.1 Teores de amônio (N-NH_4^+), nitrato e nitrito ($\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$) no solo	29
3.4.2 N da fração amino-açúcares do solo pelo ISNT	30
3.4.3 Carbono e Nitrogênio da Biomassa Microbiana	31
3.4.4 Respiração basal do Solo.....	32
3.4.5 Quociente Metabólico.....	32
3.5 Avaliações na planta	33
3.5.1 Perfilhamento	33
3.5.2 Índice SPAD	33
3.5.3 Teor foliar de N.....	33
3.5.4 Teores foliares de amônio (N-NH_4^+) e nitrato (N-NO_3^-)	34
3.5.5 Acúmulo de N.....	34
3.5.6 Avaliação da produtividade e dos atributos tecnológicos	35
3.6 Análise estatística	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4.1 Efeito no solo.....	37
4.1.1 Teores de amônio (N-NH_4^+) e nitrato + nitrito ($\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$) no solo	37
4.1.2 N da fração amino-açúcares do solo	40
4.1.3 Alterações biológicas do solo	43
4.1.3.1 Carbono e nitrogênio da biomassa microbiana	43
4.1.3.2 Respirometria e quociente metabólico do solo.....	46

4.2 Efeito na planta.....	49
4.2.1 Perfilhamento.....	49
4.2.2 Índice SPAD e teor foliar de N	51
4.2.3 Teores foliares de amônio (N-NH_4^+) e nitrato (N-NO_3^-).....	53
4.2.4 Acúmulo de N	55
4.2.5 Produtividade de colmos.....	58
4.2.6 Atributos tecnológicos.....	60
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
REFERÊNCIAS	65

RESUMO

Transformações do nitrogênio no solo e a resposta da cana-planta à adubação nitrogenada em função da rotação com crotalária

O plantio de adubos verdes na renovação do canavial constitui importante fonte de nutrientes, principalmente nitrogênio (N), possibilitando redução no uso de fertilizante nitrogenado. A hipótese deste trabalho é de que a rotação com *Crotalaria* irá aumentar a disponibilidade de N no solo e diminuir a resposta da cana-planta ao N. Objetivou-se avaliar a dinâmica do N no solo em área com e sem rotação com crotalária e seu potencial na redução da adubação nitrogenada de plantio. Foram instalados dois experimentos em Iracemápolis, SP, em um Nitossolo Vermelho Eutroférico Latossólico, em delineamento de bloco casualizados com quatro repetições. No primeiro experimento, utilizou-se rotação com crotalária e, no segundo, a área foi deixada em pousio. No plantio da cana-planta (abril de 2013) foram aplicados os tratamentos controle (sem N), 30, 60, 90 e 120 kg ha⁻¹ de N, na forma de nitrato de amônio no sulco de plantio. A cada dois meses realizou-se coleta de solo para determinação dos teores de N mineral (N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻ + N-NO₃⁻) e fração hidrolisável do N orgânico (pelo método do Illinois Soil Nitrogen Test-ISNT). Mensalmente avaliou-se o número de perfilhos e, aos seis meses após o plantio, foram avaliados os teores de N total, N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻ e índice SPAD. Na colheita da cana-planta (julho de 2014) foram realizadas avaliações de produtividade, atributos tecnológicos, acúmulo de N e análises microbiológicas do solo. A rotação com crotalária aumentou o perfilhamento da cana-de-açúcar nos primeiros meses após o plantio. Nas folhas houve predomínio de N na forma de N-NH₄⁺ em relação a N-NO₃⁻ e a rotação com crotalária aumentou a concentração foliar de N-NH₄⁺. Não houve efeito da rotação com crotalária e nem das doses de N no acúmulo de N na cana-de-açúcar. Houve resposta às doses de N aplicadas no plantio somente na área sem rotação com crotalária. Apesar dos teores de N mineral no solo e N-ISNT não terem aumentado com a rotação com crotalária, o cultivo desta leguminosa aumentou a disponibilidade do N no solo, o que pode ser verificado pela ausência de resposta à adubação nitrogenada na área com rotação. A rotação com crotalária em cana-de-açúcar tem potencial de aumentar a produtividade e reduzir o uso de adubos nitrogenados no plantio da cana-de-açúcar, contribuindo para sustentabilidade do sistema.

Palavras-chave: *Crotalaria juncea*; Adubo verde; Nutrição de plantas; *Saccharum spp*; Fixação biológica de nitrogênio; ISNT

ABSTRACT

Soil nitrogen transformations and sugarcane response to nitrogen fertilization as related to sunn hemp rotation

The establishment of cover crops in rotation with sugarcane is an important source of nutrients, mainly nitrogen (N), showing potential to reduce N fertilization requirements by sugarcane. This study hypothesized that sunn hemp rotation with sugarcane will increase soil N availability and reduces sugarcane (cane-plant) response to N fertilization. The objective was to evaluate soil N dynamics in areas subjected or not to rotation, and the potential in reducing N fertilization at sugarcane planting. Two field trials were set up in Iracemápolis, SP, in a Rhodic Kandudox, in a complete block experimental design with four repetitions. In the first trial, sunn hemp was sowed and in the second trial, the field was left without cover crops. At sugarcane establishment (April 2013) the treatments were applied: control (without N), 30, 60, 90 e 120 kg ha⁻¹ of N, as ammonium nitrate applied at the borrow of the furrow. Soil sampling was performed bi-monthly to evaluate soil inorganic N content (N-NH₄⁺, and N-NO₃⁻ + N-NO₂⁻) and hydrolysable soil N (Illinois Soil Nitrogen Test – ISNT). Sugarcane sprouting was recorded monthly and, after six months from planting, sugarcane leaves were collected to determine total N, N-NH₄⁺, N-NO₃⁻, and SPAD index. At cane-plant harvest (July 2014), the stalk yield was recorded, as well as quality parameters, N uptake, and soil microbiological analysis. Sunn hemp rotation increased sugarcane sprouting during initial growth stages. In sugarcane leaves the amount of N-NH₄⁺ is higher than N-NO₃⁻, and sunn hemp rotation increased N-NH₄ content in the leaves. However, there was no effect of rotation or N rates in N uptake by sugarcane. Sugarcane yield increased with N fertilization only in the area without rotation. Besides soil inorganic N and ISNT content did not increases with rotation, the use of sunn hemp increased the availability of soil N to sugarcane, since the rotation reduced sugarcane response to N fertilization. Rotation of sunn hemp in sugarcane field showed potential in increasing yield and reducing N fertilization at planting, contributing to the sustainability of sugarcane production.

Keywords: *Crotalaria juncea*; Green Manuring; Mineral nutrition; *Saccharum spp*;
Biological nitrogen fixation; ISNT

1 INTRODUÇÃO

A cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) tem assumido papel cada vez mais relevante no cenário da agricultura brasileira e mundial em virtude da crescente demanda por seus produtos. Deste modo, espera-se que a área cultivada com a cultura continue expandindo, ainda que em ritmo menos acelerado, nos próximos anos devido à contínua demanda por etanol (RUDORFF et al., 2010; CONAB, 2015).

Além do aumento da área cultivada, deve-se buscar incremento em produtividade, que está diretamente relacionada ao manejo da fertilidade do solo, especialmente em condições tropicais de solos altamente intemperizados. Portanto, para se aumentar a produtividade dos canaviais deve-se otimizar o manejo dos fertilizantes visando redução dos custos e sustentabilidade da produção de bioenergia. Nesse sentido, há demanda por pesquisas que possam contribuir para o manejo sustentável do sistema de produção da cana-de-açúcar.

A cana-de-açúcar apresenta alta exigência em nitrogênio (N), sendo um dos nutrientes mais limitantes, tanto no desenvolvimento da cultura como na expressão do potencial produtivo dos cultivares plantados no Brasil (AMBROSANO et al., 2013). Desta forma, há expectativa de aumento no uso de fertilizantes nitrogenados, tendo em vista o suprimento nutricional das culturas por N, a fim de se obter maiores produtividades (MARTINELLI et al., 2010). Todavia, o uso ineficiente dos fertilizantes nitrogenados é um problema global que ameaça a sustentabilidade da produção dos biocombustíveis (CRUTZEN; MOSIER; SMITH, 2008). O uso indiscriminado de fertilizantes nitrogenados representa uma ameaça à qualidade do ar e água, tanto pelo potencial de emissão de gases de efeito estufa (CO_2 e N_2O) no processo de produção e uso de fertilizantes nitrogenados, quanto pela contaminação da água por nitrato (NO_3^-).

Nesse sentido, recomenda-se o uso de adubos verdes com espécies leguminosas, reduzindo-se a necessidade da utilização de fertilizantes nitrogenados, em decorrência da fixação biológica de N por bactérias que vivem em simbiose com o sistema radicular das plantas. O estoque de N contido nas leguminosas pode suprir a exigência da cultura por meio da mineralização do N dos resíduos culturais. Por fim, a utilização dos adubos verdes ao longo das últimas décadas está associada à melhoria da qualidade do solo, ao aumento da produtividade das culturas e sustentabilidade dos sistemas agrícolas.

No setor sucroenergético o plantio do adubo verde é realizado na época da reforma do canavial e, dentre as diversas leguminosas usadas para adubação verde, a *Crotalaria juncea* é uma das espécies mais promissoras. A utilização de adubos verdes em rotação com a cana pode suprir, em parte ou totalmente, a demanda por fertilizantes nitrogenados (XAVIER, 2002; TRENTO FILHO, 2009), pois resulta na incorporação de quantidades expressivas desse nutriente no sistema solo-planta (PERIN et al., 2003), que poderão ser deduzidos da necessidade de adubação nitrogenada dos canaviais.

Experimentos conduzidos anteriormente mostraram a relevância do uso de adubos verdes na redução de fertilizantes nitrogenados em áreas cultivadas com cana-de-açúcar, especialmente no ciclo de cana-planta. O efeito da rotação com crotalária na redução da adubação nitrogenada das soqueiras subsequentes ainda é incerto. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial de redução da adubação nitrogenada em cana-de-açúcar pela rotação com crotalária, por meio da avaliação das transformações do N do solo em área com e sem crotalária, assim como na resposta da cultura a adubação nitrogenada.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cana-de-açúcar e sua importância econômica

O Brasil é considerado um dos maiores produtores agrícolas do mundo, favorecido por sua extensa área e pelo clima propício à produção vegetal durante todo o ano. Essas condições permitiram ao Brasil se tornar o maior produtor mundial de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp).

Segundo levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento, a área plantada com cana de açúcar na safra 2014/2015 foi de 9,00 milhões de hectares. Desse total, 54 % (3,4 milhões de hectares) foram cultivados no Estado de São Paulo. A produção nacional de cana-de-açúcar foi de 634,77 milhões de toneladas, volume 3,7 % inferior à safra anterior. Essa redução só não foi maior porque houve pequeno aumento na área plantada (2 %), ou seja, a queda na produção esteve diretamente relacionada a queda na produtividade, que atingiu 70,5 Mg ha⁻¹ na safra passada. As condições climáticas desfavoráveis (em especial a restrição hídrica) neste ano agrícola, além do menor investimento em manutenção dos canaviais, refletiram no decréscimo de produtividade de cana-de-açúcar (CONAB, 2015).

A produção de cana-de-açúcar é uma atividade de elevada importância social, econômica e ambiental para o Brasil, representando fonte de geração de diversos recursos, empregos (diretos ou indiretos) e divisas para o país. O açúcar é um dos principais produtos brasileiros, e o etanol produzido a partir da cana-de-açúcar tornou-se uma commodity energética mundial que compete economicamente com combustíveis de origem fóssil e demais biocombustíveis (GOLDEMBERG, 2007).

De acordo com Silva e Strachman (2013), a cana-de-açúcar apresenta o menor custo de produção por unidade de biomassa, o que permite ao etanol brasileiro se manter em posição de vantagem em relação aos concorrentes. Além disso, sua utilização é ambientalmente sustentável devido ao efeito mitigador da produção de biomassa nas emissões de gases de efeito estufa (NASS et al., 2007; MACEDO et al., 2008).

Em virtude da crescente demanda por etanol, açúcar, energia, e recentemente pela produção do etanol de segunda geração (a partir da celulose e hemicelulose), a cana-de-açúcar tem assumido papel cada vez mais relevante no cenário da agricultura

brasileira e mundial. Deste modo, espera-se que a área cultivada com cana-de-açúcar continue em expansão, devido à contínua demanda energética no mundo.

2.2 Nitrogênio na cana-de-açúcar

A prática da adubação é de extrema importância nos solos cultivados com cana-de-açúcar, devido as áreas de expansão ocorrerem predominantemente em solos ácidos e de baixa fertilidade natural, tornando a disponibilidade de nutrientes nessas áreas um dos fatores mais limitantes para a produtividade da cultura. Desta forma, práticas de correção do solo e adubação equilibrada devem ser adotadas para obtenção de elevada produtividade da cultura.

Para se alcançar produções economicamente viáveis é fundamental adotar estratégias de recuperar e manter os níveis de fertilidade do solo, bem como aumentar a eficiência no uso dos fertilizantes, visando à redução dos custos e a sustentabilidade da produção do setor sucroenergético.

Os fertilizantes desempenham papel fundamental no aumento da produtividade da lavoura e, atualmente, respondem por cerca de 15 % do custo de produção da cana-de-açúcar (ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS, 2010). Destaca-se o uso dos fertilizantes nitrogenados, uma vez que o nitrogênio (N) faz parte de um grande número de substâncias, participa direta ou indiretamente de vários processos bioquímicos, desempenhando diversas funções na planta, sendo ainda um dos nutrientes mais requerido pela cultura, juntamente com o potássio (TASSO JÚNIOR et al., 2007; FRANCO et al., 2008b).

O N é considerado um dos nutrientes que mais limita o crescimento das plantas, em especial nas regiões dos trópicos (PERIN et al., 2004). A deficiência de N na cultura de cana-de-açúcar é caracterizado pelo amarelecimento generalizado das folhas velhas, ocasionando diminuição do diâmetro de colmos e redução no perfilhamento. Nesse contexto, a aplicação de fertilizantes nitrogenados torna-se importante para garantir o suprimento adequado de N, permitindo a obtenção de elevadas produtividades dos canaviais (THORBURN et al., 2010; FRANCO et al., 2011).

A exigência em N pela cultura da cana-de-açúcar atinge 2,4 kg Mg⁻¹ de colmo (CANTARELLA; ROSSETTO, 2010), extraindo em média 150 kg ha⁻¹ de N (FRANCO, 2008a; OLIVEIRA et al., 2010). A maior parte deste N encontra-se nos

colmos. Resultados obtidos por Franco (2008a) mostraram que cerca de 50 % do N foi alocado nos colmos, 22 % nas folhas secas, 20 % nos ponteiros e 8 % nas raízes. Ainda segundo esse autor, a distribuição do N proveniente dos fertilizantes não variou conforme a dose de N empregada. Apesar disso, as doses de N influenciaram significativamente a produtividade, sendo as altas produtividades frequentemente associadas à altas doses de N (ROY et al., 2006).

No Brasil as doses de fertilizantes nitrogenados utilizadas nos canaviais são pequenas, em torno de 40 a 60 kg ha⁻¹ de N no plantio e entre 60 a 120 kg ha⁻¹ de N após cada corte da cana-de-açúcar (CANTARELLA; ROSSETTO, 2010). Para produtividade semelhante, Índia e China, por exemplo, recomendam até 300 kg ha⁻¹ de N (ROY et al., 2006), e de 150 a 200 kg ha⁻¹ de N em diversos países (África do Sul, MEYER; WOOD, 1994; Austrália, SCHROEDER et al., 2008; EUA, WIEDENFELD; ENCISO, 2008; Guatemala, PÉREZ et al., 2008; México, SALGADO GARCÍA et al., 2010). Em condições brasileiras as quantidades de N exportadas pelos colmos são semelhantes ou até maiores que as doses aplicadas ao longo do ciclo, sem considerar as perdas de N do sistema (CANTARELLA et al., 2008). Isto indica que o cultivo contínuo da cultura pode levar ao esgotamento das reservas deste nutriente no solo, ocasionando diminuição da produtividade da cultura, embora este comportamento não seja observado nos canaviais em condições brasileiras. Esse fato tem sido apontado como evidência da ocorrência de fixação biológica de N na cultura da cana-de-açúcar (BODDEY et al., 2003; FRANCO et al., 2011; URQUIAGA et al., 2012).

Por essas indagações, a adubação nitrogenada destaca-se como uma das práticas culturais de maior demanda de pesquisa para essa cultura, pois os estudos sobre N apresentam resultados muito variáveis, muitas vezes até contraditórios, sendo que os mecanismos de resposta ao N pela cana-de-açúcar não estão ainda suficientemente elucidados (KORNDÖRFER et al., 2002).

Como relatado, os fertilizantes nitrogenados são utilizados tanto no plantio quanto nas soqueiras, visando suprir parcialmente a demanda da cultura em N. O restante é fornecido pela mineralização do N do solo, ou seja, pela transformação do N de origem orgânica em formas inorgânicas, como o amônio (N-NH₄⁺) ou nitrato (N-NO₃⁻). No entanto, o uso de N representa um desafio à qualidade do ar e da água em termos globais, pois apresentam uma dinâmica complexa, pelas múltiplas transformações e reações que ocorrem no sistema solo-planta.

Os fertilizantes nitrogenados aplicados no solo passam por uma série de transformações químicas e microbianas, podendo ser perdidos por volatilização, desnitrificação, erosão, escoamento superficial ou por lixiviação para águas subterrâneas. Atualmente, a grande preocupação da aplicação do N por meio de fertilizantes sintéticos está relacionado ao aumento das emissões do óxido nitroso (N_2O), um potente gás do efeito estufa (BOUWMAN et al., 2010). Portanto, é necessário buscar uma nutrição equilibrada associada a práticas culturais adequadas, minimizando os gastos com fertilizantes, tornando a agricultura economicamente viável e competitiva, reduzindo-se as perdas e a poluição ambiental (SALA et al., 2007).

2.3 Adubação verde na cana-de-açúcar

A adubação verde consiste na prática de adoção de rotação de culturas que permitam melhorar características do solo e a produtividade da cultura plantada em sucessão. De forma geral, sendo a cultura principal uma gramínea, o ideal seria o plantio de leguminosas em rotação.

Dentro deste contexto, a utilização da adubação verde em rotação com a cultura principal é uma opção para suprir a demanda por N pela cultura, em partes ou totalmente, considerando que esta é mais econômica e ambientalmente vantajosa. Além do suprimento de N, os adubos verdes podem apresentar efeitos benéficos em diferentes aspectos do solo. O plantio de adubos verdes pode proporcionar melhoria das propriedades físicas do solo, favorecendo o rompimento das camadas compactadas e auxiliando na manutenção da umidade do solo; nas propriedades biológicas, aumentando o teor de matéria orgânica, sequestrando carbono no solo, contribuindo para mitigar o efeito estufa (AMADO et al., 2001). Além disso, pode atuar também na melhoria da fertilidade do solo, devido à reciclagem de nutrientes das camadas inferiores para as camadas superiores do solo, diminuição da toxicidade do Al e Mn complexados pelos ácidos orgânicos e pela elevação do pH. No entanto, os efeitos benéficos dependem da seleção adequada do adubo verde e seu manejo (FAGERIA et al., 2011).

As leguminosas são as plantas mais utilizadas para a adubação verde, destacando-se por apresentarem associações simbióticas com bactérias do gênero *Rhizobioum* fixadoras de N_2 atmosférico. Na palhada das leguminosas os teores de N

normalmente são maiores, quando comparado a outras espécies, resultando no aporte de quantidades expressivas de N no solo. Segundo Perin et al. (2004), a fitomassa da parte aérea da *Crotalaria juncea* apresentou acúmulo de N equivalente a 305 kg ha⁻¹, enquanto a gramínea (milheto) apresentou apenas 97 kg ha⁻¹. Dias e Sousa (2004) observaram que a introdução das leguminosas como adubo verde melhorou o balanço de N, tornando-se importante principalmente em solos tropicais, deficientes neste nutriente, auxiliando na economia de fertilizantes nitrogenados.

A utilização de adubos verdes em cana-de-açúcar não é uma prática recente. Estudo realizado por Arceneaux et al. (1932), avaliou o uso de diversas espécies de leguminosas em área de canavial em Louisiana, relatando que a maior biomassa e disponibilidade de N foram obtidas pela soja (*Glycine max* L. Merr.), *Crotalaria juncea* e *Cajanus indicus*.

No Brasil, um dos primeiros estudos com adubo verde na cultura da cana-de-açúcar avaliou o rendimento da cana-de-açúcar após o cultivo de *Crotalaria juncea* e mucuna preta, observando que ambas proporcionaram aumentos médios de 14 Mg ha⁻¹, na produtividade da cultura (CARDOSO, 1956).

Trabalhos recentes sobre rotação com leguminosas têm sido realizados na Austrália. Uma das propostas é incluir as leguminosas na rotação da cana-de-açúcar para melhorar a produtividade do canavial e a qualidade do solo, em decorrência da preocupação com o declínio da produtividade da cultura. Os benefícios em produtividade utilizando-se adubos verdes para canaviais subsequentes são variáveis de acordo com o crescimento da leguminosa, a fixação biológica de N e o tipo de solo. Por exemplo, Garside e Bell (2001), resumindo os resultados de 6 anos de experimentos de rotação de leguminosas com cana na Austrália, relataram aumento de 15 a 25 % na produtividade em comparação ao sistema convencional, atribuindo os resultados provavelmente ao maior aporte de matéria orgânica e a disponibilidade total de N em todo o ciclo da cultura. Além disso, Hunsigi (1993) avaliou a incorporação dos resíduos das leguminosas em consórcio com a cana e observou melhores produtividades, estando associado com a mineralização do N.

Recomenda-se utilizar a adubação verde com leguminosas na cana-de-açúcar em época de reforma do canavial, normalmente no verão e a cada quatro ou cinco cortes, durante os meses em que o solo permaneceria descoberto. Essa prática não interfere na brotação da cana e promove aumento significativo nas produções de cana-de-açúcar em pelo menos dois cortes; protege o solo contra erosão e evita a

multiplicação de ervas daninhas (AMBROSANO et al., 2005). Na região Centro-Sul do Brasil, a prática que tem sido amplamente utilizada é o plantio de leguminosas como *Crotalaria juncea*, *Crotalaria spectabilis*, soja e amendoim.

Utiliza-se normalmente a crotalaria em áreas de produção de cana-de-açúcar, por apresentar rápido crescimento inicial, por proporcionar um sistema radicular agressivo (até 4,5 m de profundidade) e por fixar N, auxiliando gradualmente na recuperação da fertilidade do solo. De acordo com Wutke (1993), a *Crotalaria juncea* pode fixar de 150 a 165 kg ha⁻¹ de N, podendo chegar a 450 kg ha⁻¹ em certas situações, podendo substituir integralmente a aplicação de fertilizantes nitrogenados até o segundo corte (LUZ et al., 2005; AMBROSANO et al., 2011).

Em geral, é aceito que a rotação com leguminosa reduz substancialmente ou até mesmo elimina o uso de fertilizantes nitrogenados no plantio da cana-de-açúcar. Entretanto, retorna-se com a adubação convencional após o primeiro corte da cana, assumindo-se que as leguminosas não disponibilizam N para as soqueiras. Porém, resultados obtidos por Park et al. (2010) na Austrália, com condições edafoclimáticas semelhante ao Brasil, sugerem que as leguminosas disponibilizam o N até a quarta soqueira, possibilitando redução no uso dos fertilizantes nitrogenados também em soqueiras sem comprometer a produtividade

Segundo Schroeder et al. (2007), em áreas de rotação com leguminosas, deve-se manejar adequadamente a recomendação de fertilizantes nitrogenados para a cultura da cana, subtraindo completamente o N proveniente das leguminosas da quantidade total de N a ser recomendada, evitando-se o excesso de nutriente, ocasionando assim, redução dos custos e dos impactos ambientais.

Exemplo disso é a comparação entre as quantidades de fertilizantes nitrogenados necessários para se atingir a mesma produtividade. Conforme Park et al. (2010), a produtividade de 92 Mg ha⁻¹ foi alcançada na primeira soca com aplicação de 12 kg ha⁻¹ de N em área com leguminosa, enquanto em área sem leguminosas foram necessários 91 kg ha⁻¹ de N para a mesma produção (92 t ha⁻¹), ou seja, houve redução de 87 % na quantidade de fertilizante aplicado. Essa tendência continuou na segunda, terceira e quarta soqueiras, com reduções de aproximadamente 30, 25 e 10 % da dose de N, respectivamente. Rabbinge (1993) observou que apenas 7 kg ha⁻¹ de N foram necessários para se obter a produtividade esperada (quando se adotou a rotação com leguminosas). A utilização de leguminosas pode resultar em redução em

torno de 113 kg ha⁻¹ em comparação com as atuais recomendações de adubação nitrogenada (SCHROEDER et al., 2008).

No Brasil diversos estudos avaliaram o efeito da rotação com crotalária no aproveitamento do N e na produtividade da cana-de-açúcar plantada em sequência (AMBROSANO et al., 2011). Já é aceito pelos produtores que em áreas com rotação com crotalária pode-se reduzir ou eliminar a adubação nitrogenada de plantio. Entretanto, os trabalhos realizados não permitem concluir se pode haver redução ou não da adubação nitrogenada também nas soqueiras. Existem evidências de que se pode reduzir também a adubação nitrogenada nas soqueiras, uma vez que em áreas com rotação com crotalária, assim como uso de resíduos orgânicos (torta de filtro e vinhaça), a resposta das soqueiras à adubação nitrogenada é limitada (OTTO et al., 2013).

A hipótese deste trabalho é de que a rotação com crotalária irá aumentar a disponibilidade do N do solo e reduzir a resposta da cana-planta à adubação nitrogenada. Os efeitos possivelmente irão perdurar também nos ciclos subsequentes, o que será foco de estudos futuros nas mesmas áreas deste estudo. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a disponibilidade do N no solo em função da rotação com crotalária, assim como parâmetros de crescimento, estado nutricional e produtividade da cana-de-açúcar em função de doses de N aplicadas em áreas com e sem rotação com crotalária no ciclo de cana-planta.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área experimental

O experimento foi conduzido no período de abril de 2013 a julho de 2014, na Usina Iracema (Grupo São Martinho), localizada no município de Iracemápolis – SP (22° 34' S, 47° 31' W) com altitude média de 608 m.

O clima da região de acordo com Köppen é do tipo Cwa, caracterizado como tropical chuvoso, com verão quente e inverno seco, com precipitação média anual de 1540 mm. A temperatura média anual é de 20,4 °C, com a média do mês mais quente de 22 °C e o mais frio de 18 °C.

Para estimar a disponibilidade hídrica durante o ciclo da cultura, utilizou-se o método do balanço hídrico (Figura 1) proposto por Thornthwaite e Mather (1995), a partir dos dados obtidos da estação meteorológica pertencente à Usina Iracema.

Figura 1 - Balanço hídrico mensal durante o primeiro ciclo de cultivo da cana-de-açúcar

O solo da área experimental foi classificado como Nitossolo Vermelho Eutrófico Latossólico (EMBRAPA, 2013). Antes do plantio da crotalaria foi realizada amostragem de solo nas camadas de 0-10, 10-20, 20-40, 40-60 e 60 a 100 cm de profundidade. Nessas amostras, foram avaliados os seguintes atributos químicos do solo (Tabela 1): pH em CaCl_2 0,01 mol L^{-1} (1:2,5); acidez potencial (H+Al), determinada em solução tampão SMP (QUAGGIO; RAIJ; MALAVOLTA, 1985); Al trocável extraído com solução de KCl 1 mol L^{-1} e titulado com NaOH 0,05 mol L^{-1} ; os teores de P, K, Ca e Mg extraídos por resina trocadora de íons (RAIJ et al., 2001), além dos teores de S, matéria orgânica do solo (MOS) e micronutrientes. Após a

extração, os teores de P foram determinados por colorimetria, os de K por fotometria de chama e os de Ca, Mg e Al por espectrofotometria de absorção atômica. Os teores de S foram determinados por turbidimetria, e os de MOS pela combustão úmida (método Walkley & Black).

Os teores de Cu, Fe, Mn e Zn (Tabela 2) foram extraídos com DTPA 0,005 mol L⁻¹ e as leituras realizadas por espectrofotometria de absorção atômica, enquanto o B foi extraído com água quente e quantificado por colorimetria.

Com relação aos atributos físicos do solo (Tabela 3), foram analisados granulometria, densidade do solo, macro e microporosidade, porosidade total e tamanho de agregados (DMP).

Na determinação granulométrica foi quantificada o teor de argila (< 0,002 mm), o de silte (0,002 – 0,05 mm) e o de areia (> 0,02 mm) pelo método da pipeta com NaOH, como dispersante. A densidade do solo foi determinada pelo método do anel volumétrico, em trincheiras abertas na implantação do experimento para classificação do solo. A determinação da porosidade total do solo foi calculada a partir da relação entre a densidade de partículas e a densidade do solo. A microporosidade foi determinada em amostras com estrutura preservada, nas quais foram submetidos à saturação por 24 h. Em seguida, foram colocadas em mesa de tensão. A macroporosidade foi calculada pela diferença entre a porosidade total e a microporosidade (EMBRAPA, 1997). A distribuição dos agregados nas diversas classes foi transformada em diâmetro médio ponderado (DMP).

Tabela 1 – Atributos químicos do solo antes da instalação do experimento¹

Prof.	MOS	pH	P	Ca	Mg	K	Na	Al	H	H+Al	SB	T	V	m
cm	g dm ⁻³	CaCl ₂	mg dm ⁻³	mmol _c dm ⁻³									— % —	
0-10	35	4,4	76,83	20,33	8,67	7,60	0,3	14	40	54	36,90	90	41	27
10-20	30	4,4	48,83	18,50	7,50	6,90	0,3	13	47	60	33,20	93	36	27
20-40	20	4,5	28,00	17,67	7,17	7,22	0,3	8	37	45	32,36	77	42	19
40-60	17	4,7	8,33	18,17	6,50	6,68	0,5	4	34	38	31,85	70	45	11
60-100	17	4,7	7,67	16,50	6,00	7,10	0,6	4	32	36	30,20	66	46	11

¹MOS, matéria orgânica do solo; SB = soma de bases (SB = Ca+Mg+K+Na); T = capacidade de troca catiônica a pH 7 (T = SB+H+Al); V = saturação por base [V = (SB/T) *100]; m = saturação por alumínio [m = (Al/SB+Al)*100]

Tabela 2 – Teores de enxofre (S) e micronutrientes do solo antes da instalação do experimento

Prof.	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
(cm)	mg dm ⁻³					
0-10	64,17	0,32	0,90	59,67	27,33	1,05
10-20	52,17	0,31	0,77	45,33	19,37	0,83
20-40	20,50	0,29	0,48	26,00	16,23	0,55
40-60	50,83	0,31	0,42	15,17	6,47	0,52
60-100	47,83	0,29	0,30	14,00	3,80	0,37

Tabela 3 - Atributos físicos do solo antes da instalação do experimento¹

Prof.	Granulometria			Densidade	DMP	Porosidade		
	Areia	Argila	Silte			Macro	Micro	Total
cm	g kg ⁻¹			kg m ⁻³	mm	m ³ m ⁻³		
0-10	148	646	206	1,38	2,35	0,106	0,442	0,548
10-20	145	666	189	1,37	1,77	0,118	0,447	0,565
20-40	125	686	189	1,27	1,01	0,186	0,395	0,581
40-60	93	739	168	1,17	1,17	0,169	0,465	0,634
60-100	85	758	157	1,15	1,15	0,202	0,418	0,620

¹DMP, diâmetro médio ponderado.

3.2 Instalação e condução do experimento

O experimento foi implantado em área de 5^o corte, simulando reforma do canavial. A cana-de-açúcar foi dessecada com herbicida. Em seguida, realizou-se o preparo convencional do solo por meio de gradagem e subsolagem. Em janeiro de 2013, metade da área foi semeada com *Crotalaria juncea* e a outra metade foi deixada em pousio. Em meados de abril foi realizado o manejo da crotalária (passagem de grade fechada, com incorporação superficial no solo), sendo posteriormente realizada a sulcação e aplicação de 120 kg ha⁻¹ P₂O₅ no sulco, conforme recomendação baseada na análise de solo. Não foi necessário aplicar potássio por se tratar de área com histórico de aplicação de vinhaça e, portanto, com elevados teores deste nutriente no solo (Tabela 1), dispensando a adubação potássica de plantio. Também não foi realizada aplicação de calcário e gesso, seguindo recomendação do Departamento Técnico da Usina.

A variedade de cana-de-açúcar utilizada no estudo foi a RB 96 6928, cana-de-ano-e-meio, caracterizada por sua rusticidade, boa produtividade e excelente germinação, além de elevado perfilhamento. Destaca-se como uma das variedades mais plantadas na região Centro-Sul nos últimos anos, apresentando ciclo de maturação precoce.

3.3 Delineamento experimental e tratamentos

Foi conduzido, de forma simultânea, dois experimentos em áreas adjacentes. No primeiro, utilizou-se rotação com crotalária. Já no segundo ensaio, a área foi deixada em pousio. Em ambos os experimentos, utilizou-se o delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições e cinco tratamentos. Os

tratamentos constaram de doses de N iguais a 30, 60, 90 e 120 kg ha⁻¹, aplicados na forma de nitrato de amônio (32 % de N), além de um controle (sem N). Considerou-se a dose intermediária (60 kg ha⁻¹ de N) como a recomendada para a cultura no Estado de São Paulo.

Cada experimento totalizou 20 unidades experimentais, sendo cada parcela composta por 8 linhas de cana-de-açúcar com 15 m de comprimento e espaçamento entre linhas de 1,5 m.

Para a comparação do efeito da rotação com adubo verde foi realizada análise de grupo de experimentos.

3.4 Avaliações no solo

3.4.1 Teores de amônio (N-NH₄⁺), nitrato e nitrito (N-NO₃⁻ + N-NO₂⁻) no solo

Visando avaliar o efeito da rotação com crotalária nos processos de transformação do N do solo, foram determinados os teores de N mineral (N-NH₄⁺, N-NO₃⁻ + N-NO₂⁻) durante o ciclo da cana-planta. Para essa avaliação, a cada dois meses foram realizadas amostragens de solo nas camadas de 0-20, 20-40 e 40-60 cm de profundidade, exclusivamente nas parcelas controle (para evitar interferência do N adicionado via fertilizante). Em cada parcela, realizou-se a coleta de quatro subamostras por profundidade, de forma aleatória, para melhor representar as condições da área.

Após serem coletadas em campo as amostras foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo, até a chegada ao laboratório quando foram então mantidas congeladas para minimizar alterações nas concentrações de N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻ (MATTOS JÚNIOR et al., 1995). Após descongelarem, a extração foi realizada em subamostras de 5 g de solo, a partir de 25 ml da solução extratora (KCl 2 mol L⁻¹) sob agitação por uma hora. O extrato foi filtrado por gravidade em papel de filtro previamente lavado com KCl. Nos extratos, o N mineral foi determinado em triplicata pelo sistema de injeção em fluxo contínuo (Flow Injection Analysis) – FIA (ALVES, 1992). O N-NH₄⁺ foi analisado através da formação da amônia em meio alcalino, direcionada para uma célula de condutividade. Enquanto o N-NO₃⁻ e N-NO₂⁻ foi determinado por espectrofotometria em UV a 250 nm após redução de todo N-NO₃⁻ a N-NO₂⁻ por meio da passagem do extrato por coluna de chumbo. Subamostra de cerca

de 20 g foi utilizada para determinação da umidade (mediante pesagem antes e após secagem em estufa a 105 °C por 24h), visando apresentar os resultados em base seca.

3.4.2 N da fração amino-açúcares do solo pelo ISNT

A fração amino-açúcares do N orgânico do solo foi determinado pelo método Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT), a partir do método de difusão conforme a metodologia descrita por Mulvaney et al. (2001) com as modificações proposta por Khan et al. (2001). Foram utilizadas as mesmas amostras coletadas para análise do N mineral, porém para o ISNT as amostras foram passadas em moinho de martelo e peneiradas (2 mm) após descongelarem ao ar (TFSA). A análise foi realizada em triplicata, utilizando 1 g de solo, juntamente com 10 ml de NaOH 2 mol L⁻¹ em câmaras de difusão semelhantes às do tipo Mason Jars (frasco convencional de vidro adquirido no Brasil, com boa vedação). Antes do fechamento da câmara foram adicionados 5 ml da solução 4% de H₃BO₃ em placa de petri de acrílico, permanecendo suspensa por meio das adaptações feitas na tampa das câmaras.

As câmaras, após fechadas foram transferidas para um sistema de aquecimento (composto por controlador de temperatura e chapa aquecedora, que permaneceu dentro de caixa plástica para homogeneização da temperatura de aquecimento) pré-aquecidas a 54 °C, permanecendo neste ambiente por 5 h. Os frascos foram rotacionados após 1,5 h e 3 h. Foram colocados 12 frascos por chapa aquecedora, sendo 11 contendo amostras e 1 frasco contendo 1 ml de solução de glucosamina (250 µg mL⁻¹) como controle.

Após este período, retirou-se as placas de petri e adicionou-se 5 ml de água deionizada, realizando a determinação por titulação com solução de H₂SO₄ 0,002 mol L⁻¹. Foi realizada titulação potenciométrica até obtenção do pH inicial da mistura de 5 ml de H₃BO₃ e 5 ml de água deionizada, utilizando eletrodo de superfície plana acoplado ao titulador automático (modelo 877 Tritino plus; Metrohm, Herisau, Switzerland). Em todas as determinações recuperou-se mais de 95 % da quantidade de N-glucosamina adicionada.

3.4.3 Carbono e Nitrogênio da Biomassa Microbiana

Em uma subamostra procedeu-se a determinação da umidade gravimétrica do solo, a partir da pesagem de 10 g de solo e secagem a 105 °C, por 24 h. Em outra subamostra, pesaram-se os frascos para determinação da umidade do solo e, por diferença, a massa seca do solo. Os valores de biomassa microbiana obtidos foram corrigidos pela umidade do solo.

O carbono da biomassa microbiana (CBM) foi determinado pelo método da fumigação extração (VANCE; BROOKES; JENKINSON, 1987). No método, a amostra de solo foi dividida em duas subamostras de 10 g. Uma delas foi fumigada com clorofórmio, eliminando-se os microrganismos vivos e a outra não foi alterada. As amostras fumigadas com clorofórmio foram colocadas em dessecador forrado com papel de filtro umedecido com água. No centro do dessecador, adicionou-se béquer contendo 25 ml de clorofórmio livre de etanol. As amostras foram incubadas no escuro por um período de 24 h a 28 °C. Após esse período, o dessecador foi aberto para aeração e eliminação do clorofórmio.

Posteriormente, efetuou-se a extração do CBM nas duas subamostras a partir da solução aquosa de sulfato de potássio (K_2SO_4) 0,5 mol L⁻¹. Em seguida, as amostras foram agitadas por 30 minutos (200 rpm) em agitador horizontal, com posterior filtração em papel de filtro. O CBM foi determinado por meio da reação com o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), catalisada por digestão ácida (H_2SO_4 e H_3PO_4)

Após a titulação com sulfato ferroso amoniacal [$(Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O)$ 0,0333mol L⁻¹], calculou-se o CBM pela diferença entre o volume excedente do dicromato das amostras, fumigadas e não fumigadas. Os resultados finais foram calculados pela seguinte equação:

$$CBM (\mu g \text{ C g}^{-1} \text{ de solo seco}) = (CF - CNF) / 0,33$$

Onde: CF = quantidade de carbono ($\mu g \text{ C g}^{-1}$ de solos seco) na amostra fumigada

CNF = quantidade de carbono ($\mu g \text{ C g}^{-1}$ de solo seco) na amostra não fumigada

Os valores de CBM foram expressos em mg C kg⁻¹, que equivale a $\mu g \text{ C g}^{-1}$.

O nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) foi determinado pelo método adaptado da ninhidrina reativa (JOERGENSEN; BROOKES, 1990). O mesmo extrato obtido para a determinação do CBM foi utilizado na determinação do NBM.

Adicionou-se 0,1 ml do extrato, 235 μl da solução tampão de ácido cítrico e 175 μl do reagente ninhidrina em microtubos. Em seguida, as amostras foram aquecidas

em banho maria (100 °C) por 25 minutos, resfriando à temperatura ambiente e acrescentado 675 µl da solução água:etanol (1:1). Homogeneizou-se as amostras antes de retirar uma alíquota de 200 µl adicionando-a nas cavidades das microplacas para leituras a 570 nm utilizando o aparelho microplate reader Cary® (Varian. Walnut Creek. CA. USA). A concentração de N foi calculada a partir do gráfico da curva de calibração resultante dos padrões de 0, 25, 50, 75, 100, 150, 250 e 500 µmol L⁻¹ de N.

3.4.4 Respiração basal do Solo

A atividade respiratória da biomassa microbiana, ou respiração basal do solo, foi determinada pelo método descrito por Alef (1995), através da quantificação do dióxido de carbono (CO₂) liberado no processo de respiração microbiana.

Primeiramente, pesou-se o equivalente a 100 g de solo, corrigindo os teores de umidade para 60 % da capacidade máxima de retenção de água no solo. Em seguida, as amostras foram incubadas em recipientes de vidro vedados, contendo frascos com 20 mL da solução NaOH 0,5 mol L⁻¹ que foram substituídos periodicamente por ocasião das avaliações. As amostras foram então incubadas por 32 dias no escuro em temperatura de 28 °C.

Após cada intervalo de incubação, os recipientes foram abertos e os frascos com a solução de NaOH retirados, sendo imediatamente adicionado 1 ml BaCl₂ 50 % e duas gotas do indicador fenolftaleína, em cada frasco. A quantidade de CO₂ liberada foi determinada após titulação do excedente de NaOH com solução de HCl 0,5 mol L⁻¹.

3.4.5 Quociente Metabólico

O quociente metabólico (qCO₂) foi determinado como proposto por Anderson e Domsch (1993), pela razão entre o C respirado por unidade de C microbiano em um determinado intervalo, utilizando a seguinte equação (1):

$$qCO_2 (\mu g \text{ C-CO}_2 \mu g^{-1} \text{ C dia}^{-1}) = \frac{RBC (\mu g \text{ C-CO}_2 g^{-1} \text{ dia}^{-1}).100}{CMB (\mu g \text{ C g solo}^{-1})} \quad (1)$$

3.5 Avaliações na planta

3.5.1 Perfilhamento

Foi realizada contagem do número de perfilhos em 10 m seguidos em uma única linha na região central da parcela. Realizaram-se avaliações mensais do número de perfilhos até se observar estabilidade nos valores. A partir de então, as avaliações foram bimestrais.

3.5.2 Índice SPAD

O índice relativo da clorofila (leitura SPAD) foi obtido pelo método não destrutivo, utilizando-se o clorofilômetro portátil Soil Plant Analysis Development, modelo SPAD-502 (Minolta Corporation, Ramsey, Japan). As leituras foram realizadas na folha +1 (primeira folha com lígula visível), durante a fase de máximo desenvolvimento da cultura, correspondente ao sexto mês.

Antes de realizar as leituras, o aparelho foi calibrado com o verificador de leitura (“reading checker”) de acordo com as recomendações do manual. Foi tomado o cuidado de não amostrar plantas não sadias e atípicas. Realizaram-se medições em 30 plantas por parcela, sendo utilizada a média para representar os tratamentos.

3.5.3 Teor foliar de N

Após a determinação do índice SPAD, as folhas amostradas foram imediatamente coletadas, destacando o terço médio (20 cm centrais) e excluindo a nervura central. As amostras, após coletadas, foram acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa (50 °C), com circulação forçada de ar até atingirem massa constante. Posteriormente, as amostras foram processadas em moinho tipo Willey e utilizadas para determinação do teor total de N, conforme metodologia descrita por Malavolta et al. (1997).

Este método é baseado na decomposição do material vegetal através da digestão da amostra a elevada temperatura (350 °C) com ácido sulfúrico concentrado, em presença de sulfato de cobre como catalisador que acelera a oxidação de compostos orgânicos. O N presente na solução ácida resultante foi recuperado por destilação por arraste de vapor, e determinado em seguida por titulação com H_2SO_4 0,05 mol L⁻¹.

3.5.4 Teores foliares de amônio (N-NH₄⁺) e nitrato (N-NO₃⁻)

A determinação do teor de amônio (N-NH₄⁺) e nitrato (N-NO₃⁻) foi realizada conforme descrito por Tedesco et al. (1995). Para tanto, amostra de 1 g de material vegetal foi submetida à extração com KCl 1 mol L⁻¹, após agitação por 5 min. Em seguida, na presença de 0,2 g de MgO calcinado, as amostras foram submetidas à destilação em microdestilador Kjeldahl, recolhidas em solução 2 % de H₃BO₃ e titulada com H₂SO₄ 0,0025 mol L⁻¹ para quantificação do teor de N-NH₄⁺.

Na sequência, utilizando o mesmo tubo empregado para destilação do N-NH₄⁺, adicionou-se 0,2 g de liga de devarda (Al₂₂Cu₁₀Zn), e novamente foram submetidas à destilação e posterior titulação com H₂SO₄ 0,0025 mol L⁻¹, para obtenção do teor de N-NO₃⁻.

3.5.5 Acúmulo de N

Antes da colheita, foi realizada biometria da cana-de-açúcar, que consistiu basicamente na determinação da massa de matéria seca da parte aérea. Para isso, foram colhidos manualmente 2 m lineares de cana, separando os compartimentos da planta em ponteiro, folha seca e colmo. Essas amostras foram pesadas em balança eletrônica para determinação da massa de matéria fresca. O colmo e o ponteiro foram triturados em picadora de forragem e, após homogeneização, retiraram-se subamostras que foram acondicionadas em sacos plásticos. Estas amostras foram levadas ao laboratório e pesadas em balança analítica, secas a 60 °C em estufa de circulação de ar forçada, até atingirem massa constante e pesadas novamente para determinação da umidade.

As subamostras foram processadas em moinho tipo willey e determinadas as concentrações de N total seguindo a metodologia de Malavolta et al. (1997) já descrita anteriormente. A partir desses resultados estimou-se a quantidade de N acumulado nos compartimentos da planta, pelo produto da massa de matéria seca total pelo teor de N contido em cada compartimento.

3.5.6 Avaliação da produtividade e dos atributos tecnológicos

A colheita do experimento foi realizada nos dias 28 a 30 de Junho de 2014. A avaliação da produtividade de colmos (TCH) foi estimada mediante colheita mecanizada com colhedora e pesagem dos colmos em transbordo instrumentado com célula de carga. A colheita foi realizada nas quatro linhas centrais da parcela, permitindo extrapolar a massa de colmos para Mg ha^{-1} .

Para determinação dos atributos tecnológicos, foi obtida uma amostra de dez colmos seguidos na linha de cada parcela, na mesma ocasião da realização da biometria. O material foi encaminhado ao Laboratório de Tecnologia da Usina Itacema para determinação dos seguintes atributos: Brix (%); Fibra (%); Pureza (%) e Açúcar total recuperável - ATR (kg ha^{-1}). A análise seguiu os procedimentos descritos em Fernandes (2011).

3.6 Análise estatística

Para avaliar o efeito do manejo da adubação verde em cana-de-açúcar, foi realizada análise conjunta dos experimentos (com e sem rotação). Neste caso, foram realizadas análises de variância individuais para cada experimento e posteriormente, procedeu-se a análise conjunta dos dados, uma vez que foi atendido o requisito necessário para execução dessa análise, como recomendado por Banzatto e Kronka (2006), ou seja, a relação entre os quadrados médios residuais das análises de variância individuais de cada experimento não ultrapassaram a relação 7:1. Quando o efeito foi significativo ($P < 0,10$) na Anova, foi realizado o teste de médias (Tukey, $P < 0,10$) para comparação entre os fatores qualitativos (manejo com e sem crotalaria) e o ajuste de modelos de regressão para comparação das doses de N dentro de cada manejo.

Os dados agrupados no tempo foram analisados utilizando-se o procedimento MIXED (modelos mistos) do pacote estatístico R. A opção pelo uso do procedimento MIXED foi devido à natureza de medidas repetidas dos dados (coletados sequencialmente no tempo), em decorrência do procedimento permitir maior flexibilidade no sentido de modelar as estruturas de covariância. Dessa forma, foram ajustados modelos mistos, buscando ajustar possíveis dependência entre observações na mesma parcela e em época distintas. Para análise de solo, considerou-se análise distintas por profundidades. No perfilhamento, o manejo, a dose

de N e a época foram considerados efeito fixo e apenas bloco foi considerado efeito aleatório.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito no solo

4.1.1 Teores de amônio (N-NH_4^+) e nitrato + nitrito ($\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$) no solo

Os teores de N-NH_4^+ e $\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$ são muito dinâmicos no solo (Tabela 4 e 5). De acordo com Port et al. (2003), essa ampla variação deve-se as condições climáticas e as características físico-químicas do solo, assim como as práticas conservacionistas (AITA et al., 2004).

Os teores de N-NH_4^+ foram relativamente baixos nas primeiras avaliações em todas as camadas, aumentando os teores principalmente nas avaliações realizadas a partir de Janeiro e mantendo-se elevados até a colheita (em julho). Adicionalmente, de maneira geral, observaram-se maiores teores de N-NH_4^+ nas camadas superficiais, o que pode estar relacionado ao maior acúmulo de matéria orgânica nestas camadas (ARANDA et al., 2011). Este comportamento variável do N-NH_4^+ no solo pode ser atribuído a diversos fatores, uma vez que o N-NH_4^+ no solo pode ter sido absorvido pela cana-de-açúcar, pode ter sido transformado em N-NO_3^- pelas bactérias nitrificadoras ou ainda pode ter sido imobilizado pela biomassa microbiana. Ou seja, o N-NH_4^+ é sujeito a diversas transformações no solo, de tal forma que é difícil prever o seu comportamento durante o ciclo agrícola. De maneira geral, ao inverso do esperado, a rotação com crotalária não aumentou os teores de N-NH_4^+ no solo em nenhuma das camadas avaliadas (Tabela 4). Pode ser que os teores naturalmente elevados de N-NH_4^+ neste solo, proporcionados pelo alto teor de matéria orgânica (Tabela 1), pode ter mascarado o efeito da crotalária em aumentar a disponibilidade de N-NH_4^+ no solo ao longo do ciclo de cultivo da cultura.

Os teores de N-NO_3^- e N-NO_2^- no solo foram mais altos do que os teores de N-NH_4^+ em praticamente todas épocas avaliadas e em todas as camadas do solo (Tabela 5). Isso possivelmente está associado à transformação do N-NH_4^+ a N-NO_3^- e N-NO_2^- pelas bactérias nitrificadoras no processo de nitrificação. Estes resultados estão de acordo com observações da literatura, de que normalmente os teores de N-NH_4^+ encontrados em solos agrícolas são menores do que aqueles de N-NO_3^- (OWEN; JONES, 2001; POLETTTO; GROHS; MUNDSTOCK, 2008; MARSCHNER, 2012; MARIANO, et al., 2015), que ocorre principalmente devido às limitações na difusão de NH_4^+ (SCHJOERRING et al., 2002) e da rápida oxidação de NH_4^+ a NO_3^- por bactérias

nitrificantes (NORTON, 2000). Apesar do baixo pH do solo (Tabela 1), que pode ter desfavorecido a nitrificação, outros fatores como adequada disponibilidade de água, temperaturas elevadas durante o ciclo e alto teor de matéria orgânica do solo (como fonte de C para os microrganismos) podem ter favorecido a atividade de bactérias nitrificadoras (BRUM, 1975), induzindo a reação de oxidação do N-NH_4^+ presente no solo a N-NO_3^- (SILVA; VALE 200) justificando a maior concentração de N-NO_3^- no solo.

O efeito da rotação com crotalária no aumento dos teores de N-NO_3^- e N-NO_2^- não foi tão claro como se esperava. Apesar de algumas épocas os teores de N-NO_3^- e N-NO_2^- terem sido superiores na área com rotação (Tabela 5), este comportamento não ocorreu em todas as épocas de avaliação e em todas as profundidades. Até mesmo houve, em algumas ocasiões, comportamento inverso, com maiores teores de N-NO_3^- e N-NO_2^- na área sem rotação.

O N-NH_4^+ apresentou uma tendência de reduzir no perfil do solo (Figura 2), podendo estar relacionando a diversos fatores tais como temperatura, umidade e aeração e especialmente pH que afetam diretamente a atividade das bactérias responsáveis pelo processo de nitrificação (GIRACCA, 2005). Entretanto, os teores de N-NH_4^+ foram crescentes em função das épocas de amostragem do solo.

Os teores de N-NO_3^- aumentaram em profundidade nas avaliações de março e julho/14 para área sem e com crotalária, respectivamente (Figura 2). Não se verificou a mesma tendência para o N-NH_4^+ . Segundo Brum (1975), a maior concentração de NO_3^- em profundidades inferiores ocorre devido aos cátions NH_4^+ tenderem a ser adsorvidos pelas cargas negativas do solo, enquanto o NO_3^- , por ser pouco adsorvido, tende a ser lixiviado, justificando a maior concentração de nitrato à de amônio em profundidade. Oliveira et al. (2001) também verificaram aumento dos teores de N-NO_3^- com a profundidade.

Tabela 4 – Teor de N-NH_4^+ (mg kg^{-1}) em diferentes épocas e profundidades do solo em área com e sem rotação com crotalária

Épocas	Rotação com crotalária					
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
	0-20 cm		20-40 cm		40-60 cm	
	N-NH ₄ ⁺ (mg kg ⁻¹)					
Mai/13	4 cA	4 cA	5 cA	2 CdeA	2 dA	1 dB
Jul/13	5 cA	6 dA	2 dA	1 Db	0 eA	0 eB
Set/13	15 bA	10 eB	6 cA	5 Cb	3 cA	1 cdB
Nov/13	0 dB	1 bA	2 dA	1 eA	2 cA	2 cB
Jan/14	19 abA	12 cdeA	12 bA	11 Ba	10 bA	8 bA
Mar/14	10 bcdA	14 adeA	8 bcdA	9 cA	8 bcdeA	5 bcdeA
Mai/14	23 aA	23 aA	21 aA	22 aA	18 aA	21 aA
Jul/14	23 aA	24 aA	22 aA	23 aA	21 aA	21 aA
P _{Manejo}	0.626		0.474		0.289	
P _{Época}	<0.001		<0.001		<0.001	
P _{Manejo*Época}	<0.001		<0.001		<0.001	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, e na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey-Kramer ($p < 0,1$). Letras minúsculas comparam época dentro de cada profundidade e letras maiúsculas comparam o manejo dentro de cada época para cada profundidade.

Tabela 5 – Teor de N-NO_3^- e N-NO_2^- (mg kg^{-1}) em diferentes épocas e profundidades do solo em área com e sem rotação com crotalária

Épocas	Rotação com crotalária					
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
	0-20 cm		20-40 cm		40-60 cm	
	N-NO ₃ ⁻ + N-NO ₂ ⁻ (mg kg ⁻¹)					
Mai/13	9 eA	0 dB	5 eA	1 cB	6 eA	3 eB
Jul/13	23 cA	22 cA	13 dA	12 bA	6 eB	9 dA
Set/13	29 bB	35 aA	14 dA	13 bA	9 dA	10 cA
Nov/13	32 aA	26 bB	30 aA	21 aB	21 bA	14 bB
Jan/14	19 bcdeA	25 abcA	18 bcdA	26 aA	11 cdeB	20 abcA
Mar/14	17 dA	19 cA	8 deB	24 abA	11 cdeA	19 bA
Mai/14	17 cdeA	27 abcA	24 abA	28 aA	30 aA	21 aA
Jul/14	28 abcdA	29 abcA	24 acA	24 aA	22 abcB	31 aA
P _{Manejo}	0.288		0.079		0.097	
P _{Época}	<0.001		<0.001		<0.001	
P _{ManejoÉpoca}	<0.001		<0.001		<0.001	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, e na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey-Kramer ($p < 0,1$). Letras minúscula comparam época dentro de cada profundidade e letra maiúscula comparam o manejo dentro de cada época para cada profundidade

Figura 2 – Distribuição do N-NH₄⁺ e do N-NO₃⁻ (mg kg⁻¹) em diferentes períodos de avaliação

4.1.2 N da fração amino-açúcares do solo

O Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT) é um teste no solo que avalia frações de N orgânico associado aos amino-açúcares do solo, principalmente provenientes da decomposição da parede celular de fungos e bactérias do solo (KWON et al., 2009). Era esperado que, a rotação com crotalária, favorecesse a atividade biológica do solo pela inclusão de uma leguminosa em rotação com a cana-de-açúcar, favorecendo aumento dos teores de N mineral do solo pela fixação biológica do N e adição de C de resíduos vegetais com baixa relação C/N. Entretanto, após o cultivo da leguminosa

durante cerca de três meses antes do estabelecimento do canavial, não observou-se aumento dos teores de N-ISNT do solo com o cultivo prévio da leguminosa em nenhuma das épocas ou profundidades avaliadas (Tabela 6).

As maiores oscilações dos teores de N-ISNT ocorreram nas camadas de 0 a 20 e de 20 a 40 cm entre as épocas de avaliação. Os teores de N-ISNT variaram de 228 a 273 e de 236 a 263 mg kg⁻¹ de N, na área com crotalária e sem crotalária, respectivamente (Tabela 6). Estes valores podem ser considerados elevados se comparados aos obtidos em condições de solos cultivados com cana-de-açúcar no Brasil. Otto et al. (2013) observaram, em várias condições de solo e clima do Estado de São Paulo, teores de N-ISNT variando de 49 a 209 mg kg⁻¹ nas camadas de 0 a 20 e de 20 a 40 cm. Naquele trabalho, as áreas foram classificadas em altamente responsivas à adubação nitrogenada, moderadamente responsivas e não responsivas com teores de N-ISNT < 57, entre 57 e 85 e > 175 mg kg⁻¹, respectivamente. Porém, neste trabalho os valores de ISNT variaram de 228 a 273 mg kg⁻¹ na camada de 0 a 20 cm, de 164 a 219 na camada de 20 a 40 cm e de 136 a 156 mg kg⁻¹ na camada de 40 a 60 cm. Dessa forma, considerando os intervalos observados por Otto et al. (2013), este solo seria classificado como não responsivo à adubação nitrogenada. Os valores de ISNT obtidos neste solo assemelham-se aos observados por Khan et al (2001) em condições de clima temperado.

O N-ISNT varia em resposta a características do solo e em função de fatores abióticos como temperatura e umidade do solo (GRIFFI, 2008). Os elevados teores de MOS desta área (Tabela 1), explicam os valores elevados de N-ISNT. Como consequência, solos com teores elevados de MOS tendem a proporcionar menores respostas da adubação nitrogenada, em relação a áreas com teores baixos (RUFFO, 2006). A mineralização do N a partir da matéria orgânica e dos resíduos culturais é um dos principais componentes que disponibilizam N para o solo e estão associados à resposta à adubação nitrogenada.

Outros estudos mostram a importância da profundidade de amostragem nos valores de N-ISNT (KHAN et al., 2001; BARKER et al, 2006; ROBERTS et al, 2009). De modo geral, maiores teores de N-ISNT são observados na superfície (RANDALL; VETSCH, 2002), em decorrência de diversos fatores, tais como teor de MOS e atividade microbiana. A fração ISNT não foi influenciada em profundidades inferiores (20-40 cm), embora tenha apresentado valores elevados de N-ISNT.

Não se verificou efeito ($P < 0,1$) da rotação com crotalária nos teores de N-ISNT. Estudos realizados à campo com diferentes manejos culturais, como plantio direto, rotação de cultura, adubação nitrogenada e aplicação de esterco não estabeleceram relações claras nas alterações no ISNT (BARKER et al., 2006). Marriott e Wander (2006), em sistema de cultivo convencional e orgânico, verificaram que o ISNT não foi um índice sensível ao N.

O período de avaliação afetou exclusivamente os teores de N-ISNT da camada de 0 a 20 cm, o que era esperado por se tratar da camada do solo com maior atividade microbiana. Para ambos manejos (com ou sem rotação), os maiores valores foram obtidos em março de 2014 e os menores em maio de 2014. Em março de 2014, período que não se caracterizou com déficit hídrico, pode ter favorecido a atividade da microbiota do solo em comparação ao período de maio de 2014. Porém, de maneira geral, as variações dos teores de N-ISNT não foram tão pronunciadas durante o período experimental. De acordo com Barker (2006), os valores de ISNT variam mais entre solos do que entre períodos de amostragem, corroborando os resultados obtidos neste experimento.

A tendência foi reduzir o N-ISNT ao longo do tempo, sugerindo um possível efeito do aumento da absorção de N pela planta (RANDALL; VETSCH 2002). O N orgânico torna-se disponível para cultura através da mineralização durante o período vegetativo, estando disponível durante a fase de crescimento da cultura (HOEFT et al., 2011).

De maneira geral, considerando os resultados obtidos neste experimento (Tabela 6), a utilização do ISNT não foi promissor em identificar variações no solo promovidas pela rotação de culturas. Dessa forma, parece que este teste, caracterizado por hidrólise alcalina do solo (utilizando solução 2 mol L^{-1} de NaOH) para liberar formas mais facilmente mineralizáveis do N orgânico do solo, não está sendo sensível o suficiente para identificar alterações em função do manejo. Uma estratégia seria adotar, por exemplo, solução NaOH menos concentrada, buscando identificar frações mais lábeis da MOS.

Houve diminuição dos teores de N-ISNT em função das profundidades de amostragem nas duas áreas (Figura 3). Além disso, a Figura 3 demonstra que a área com rotação com crotalária apresentou maior amplitude dos teores de N-ISNT entre os períodos de amostragem.

Tabela 6 – Efeito da época e da rotação com crotalária nos teores de N - ISNT em diferentes profundidades do solo

Época	Rotação com crotalária															
	Com				Sem				Com				Sem			
	0-20 cm				20-40 cm				40-60 cm							
	N-ISNT (mg kg ⁻¹)															
Mai/13	260	abA	262	abA	218	aA	203	aA	156	aA	154	aA				
Jul/13	246	bcA	250	abA	208	aA	215	aA	149	aA	162	aA				
Set/13	248	abcA	238	abA	197	abA	197	aA	148	aA	144	aA				
Nov/13	248	abcA	255	abA	199	abA	189	aA	149	aA	146	aA				
Jan/14	250	bA	253	abA	197	abA	219	aA	141	aA	140	aA				
Mar/14	273	aA	263	aA	208	aA	197	aA	136	aA	138	aA				
Mai/14	228	cA	236	bA	164	bA	199	aA	138	aA	140	aA				
P _{Manejo}	0.941				0.497				0.786							
P _{Época}	<0.0001				0.010				0.012							
P _{Manejo*Época}	<0.084				0.0464				0.825							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, e na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey-Kramer ($p>0,1$). Letras minúscula comparam época dentro de cada profundidade e letra maiúscula comparam o manejo dentro de cada época para cada profundidade

Figura 3 – Distribuição do N – ISNT em profundidade em diferentes período de avaliação, em área com crotalária e sem crotalária

4.1.3 Alterações biológicas do solo

4.1.3.1 Carbono e nitrogênio da biomassa microbiana

Os teores médios do NBM observados neste estudo variaram de 11,5 a 18,1 mg kg⁻¹ na área sem crotalária e de 5,4 a 21,4 mg kg⁻¹ na área com crotalária. A interação entre doses de N e manejos foi significativa ($P<0,01$). Ao avaliar o efeito do

manejo dentro de cada dose de N, verificou-se diferença significativa, para todos os tratamentos, exceto para a dose 30 kg ha⁻¹ de N (Tabela 7).

A adição de resíduo vegetal (área com crotalária), concomitantemente com adubos nitrogenados, aumentaram o NBM comparado à área sem crotalária. Essa resposta foi observada quando se utilizou 60 e 90 kg ha⁻¹ de N. Blankenau et al. (2000) verificou mesma tendência de aumento de NBM com aumento da dose de N aplicada.

A área com crotalária apresentou menor NBM na parcela controle (0 kg ha⁻¹ de N), o que pode estar associada à competição entre plantas e microrganismos, quando há baixa disponibilidade de N no sistema solo-planta (PATERSON, 2003).

Em relação ao efeito da adubação nitrogenada no NBM, não se verificou resposta significativa para o manejo sem crotalária, no entanto a aplicação de N aumentou o NBM de forma quadrática (Figura 4 B), tendo como ponto de máximo 19,8 mg N kg⁻¹ de solo, correspondente a dose de 51,90 kg ha⁻¹, e a partir deste valor reduziu-se o NBM (Figura 4 B).

As maiores doses de N proporcionaram redução do NBM, possivelmente por propiciarem maior mineralização do N orgânico do solo, ocasionando redução do NBM (LEDGARD et al., 1998). Delbem et al. (2011) verificaram que altas doses de N ocasionou efeitos negativos sobre a microbiota do solo, reduzindo a biomassa microbiana e aumentando a nível de estresse do sistema.

Os valores de CBM variaram de 584 a 605 mg kg⁻¹ para a área sem crotalária e de 545 a 625 mg kg⁻¹ para a área com crotalária. Contudo, o efeito do manejo e da adubação nitrogenada sobre o CBM não foi significativo na análise de variância pelo teste F, bem como a interação entre os manejos e os níveis de N.

Este fato pode ser atribuído a baixa umidade do solo na época da coleta (Julho/2014), que pode ter influenciado a atividade dos microrganismos. O aumento da umidade do solo melhora a atividade e o desenvolvimento da biomassa microbiana do solo (ALVES et al., 2011). Czycza (2009) também não verificou diferenças nos valores de CBM em função de diferentes manejos e idades de implantação de cana-de-açúcar, durante o período seco.

O CBM apresentou comportamento distinto daquele verificado para o NBM, assim o CBM não foi afetado pela adubação nitrogenada (Figura 4 A). Este resultado está de acordo com Salinas-Garcia (1997), que afirma que a adubação nitrogenada tem pouca influência sobre o CBM do solo, indicando que fertilizantes nitrogenados sem substratos de carbono não tem efeito sobre a biomassa microbiana do solo.

Resultados semelhantes foram observados por Zaman et al. (2002) e Kautz et al. (2004).

Neste trabalho, o NBM mostrou ser um parâmetro mais sensível que o CBM para detectar alterações promovidas pelo manejo do solo. Anderson e Domsch (1980) observaram que os microrganismos diferem muito mais no seu teor de nitrogênio do que no de carbono, dependendo do seu estágio de crescimento.

Os valores de biomassa microbiana obtidos neste estudo são consistentes com estudos realizados em outras regiões do Brasil. Os valores variaram de 72-1520 mg kg⁻¹ para CMB (D'ANDREA et al., 2002; KASCHUK et al., 2010; JOERGENSEN, R.G, 2010) e de 4 a 110 mg kg⁻¹ para NBM (BALOTA et al, 2003; DUDA et al., 2003; ALMEIDA et al., 2009).

Tabela 7 – Carbono da biomassa microbiana (CBM) e nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) em área com e sem rotação com crotalária, submetidos a diferentes doses de N. Os resultados representam média de quatro repetições.

Dose de N	Rotação com crotalária			
	Com	Sem	Com	Sem
kg ha ⁻¹	CBM (mg C kg ⁻¹)		NBM (mg N kg ⁻¹)	
0	578 a	586 a	12,5 b	18,1 a
30	557 a	585 a	16,0 a	17,4 a
60	572 a	589 a	21,4 a	15,7 b
90	625 a	608 a	15,4 a	11,5 b
120	545 a	588 a	5,4 b	17,0 a
P _{Manejo}	0.469		0.024	
P _{Dose}	0.596		<0.001	
P _{Manejo*Dose}	0.918		<0.001	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,1). Letras comparam sistema de manejo dentro de cada dose de N.

Figura 4 – Carbono (A) e Nitrogênio (B) da biomassa microbiana em diferentes manejos e doses de N. ns, °, * e ** representam, respectivamente, não significativo e significativos a 10, 5 e 1 % pelo teste F

4.1.3.2 Respirometria e quociente metabólico do solo

A atividade microbiana (liberação de CO₂) aumentou linearmente ($P < 0,01$) com o incremento das doses de N, atingindo o maior valor com a aplicação da maior dose de N (Figura 5 A). O aumento da liberação de C-CO₂ pode ser explicada pela adição de doses crescentes de N, estimulando assim a atividade microbiana.

Segundo Follet e Schimel (1989) a maior liberação de C-CO₂ geralmente é devida à maior atividade biológica que, por sua vez, está relacionada diretamente com a quantidade de carbono lábil existente no solo. Entretanto, a interpretação dos resultados da atividade biológica deve ser feita com critério, uma vez que elevados valores de respiração nem sempre indicam condições desejáveis: uma alta taxa de respiração pode significar, a curto prazo, liberação de nutrientes para as plantas e, a longo prazo, perda de carbono orgânico do solo para a atmosfera e a degradação dos solos, tornando a atividade agrícola insustentável (PARKIN et al., 1996; CUNHA et al., 2011).

Verificou-se diferença significativa ($P < 0,05$) na respiração basal do solo entre manejos apenas para o tratamento controle (sem N) (Tabela 8). Este comportamento provavelmente está relacionada ao efeito da biomassa da crotalária adicionada à parcela e da qualidade deste resíduo (baixa relação C/N) no aumento da atividade biológica do solo.

Quanto ao quociente metabólico (qCO_2), que representa a quantidade de $C-CO_2$ liberada por unidade de biomassa microbiana em determinado tempo, não apresentou diferenças em relação ao manejo e doses de N (Figura 5 B).

Uma condição de excesso de N torna-se estressante para o desenvolvimento da planta. Em geral, solos sob influência de estresse apresentariam valores mais altos de qCO_2 (BARDGETT; SAGGAR, 1994), o que não foi observado neste estudo. Portanto, se considerar exclusivamente o qCO_2 como parâmetro de avaliação, infere-se que a adição de doses crescentes de N não proporcionou efeito adverso da comunidade microbiana.

Tabela 8 – Respiração basal e quociente metabólico (qCO_2) do solo em área com crotalária e sem crotalária, submetidos a diferentes doses de N. Os resultados apresentam médias de quatro repetições

Dose de N	Rotação com crotalária			
	Com	Sem	Com	Sem
kg ha ⁻¹	$\mu g\ C-CO_2\ g^{-1}\ dia^{-1}$		$qCO_2\ (\mu g\ C-CO_2\ \mu g^{-1}\ C\ dia^{-1})$	
0	10,3 a	7,8 b	0,015 a	0,014 a
30	9,5 a	9,1 a	0,014 a	0,016 a
60	9,8 a	9,0 a	0,015 a	0,015 a
90	8,9 a	9,5 a	0,014 a	0,016 a
120	9,6 a	10,9 a	0,015 a	0,017 a
P_{Manejo}	0.356		0.556	
P_{Dose}	0.298		0.852	
$P_{\text{Manejo} \times \text{Dose}}$	0.033		0.643	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,1$). Letras comparam sistema de manejo dentro de cada dose de N.

Figura 5 – Respiração (A) e quociente metabólico (B) do solo em diferentes manejos e doses de N. ns, °, * e ** representam, respectivamente, não significativo e significativos a 10, 5 e 1 % pelo teste F

Em relação a respiração acumulada, observa-se que na fase inicial houve maior liberação de C-CO₂ e ao final verificou-se tendência da estabilização do C-CO₂ emanado entre os tratamentos (Figura 6). Isso pode ser explicado pela redução do teor de C lábil no decorrer do período de incubação, restando o C recalcitrante e, consequentemente proporcionando menor liberação de C-CO₂. Os valores determinados nos tratamentos com adubação nitrogenada para área sem crotalária foram superior ao tratamento controle. A dose de 120 kg ha⁻¹ de N propiciou acréscimo de 40 % na liberação de C-CO₂ quando comparada ao tratamento controle.

Quando aplicado ao solo o N contribui para maior atividade microbiana e consequentemente maior emissão de C-CO₂ (GIFFORD et al., 2000). Observa-se que na área sem rotação com crotalária as doses de N promoveram aumento da respiração do solo (Figura 6). Por outro lado, na área com rotação não houve efeito das doses de N neste parâmetro, indicando que o N disponibilizado pela mineralização do N dos resíduos culturais foi suficiente para promover o desenvolvimento microbiano. Interessante observar ainda que houve tendência das doses de N diminuírem a respiração microbiana na área com rotação, apresentando indícios de excesso de N no sistema.

Figura 6 – Liberação acumulada de carbono (C-CO₂) no solo da área sem crotalária e com crotalária, durante 34 dias de incubação, nos diferentes níveis de N. Média de quatro repetições

4.2 Efeito na planta

4.2.1 Perfilhamento

Não houve efeito do N na dinâmica de perfilhamento pelo teste Wald F, o que indica que os manejos apresentaram comportamento semelhantes para essa variável (Tabela 9). Este resultado difere dos obtidos por Prado e Pancelli (2008) e Correia (2012), que verificaram influência da adubação nitrogenada no número de perfilhos da cana-de-açúcar.

Em relação ao perfilhamento, houve interação ($P < 0,01$) das épocas de avaliação e do manejo no número de perfilhos por metro (Tabela 9). Constatou-se que a área com crotalária, independentemente do tempo, apresentou maior perfilhamento.

Na análise da Figura 7, referente à dinâmica de perfilho, pode-se verificar o comportamento típico da cultura com o máximo perfilhamento no início do período vegetativo e posteriormente se constata diminuição e estabilização do perfilhamento (SEGATO et al., 2006; SIMÕES et al., 2005). Segundo Silva (2008) a partir do ponto de perfilhamento máximo, a competição entre perfilhos pelos fatores de crescimento (luz, espaço, água e nutrientes) torna-se elevada, refletindo-se na diminuição e paralisação do processo, além da morte dos perfilhos mais jovens. Este comportamento está de acordo com as observações de Castro (2000) e Oliveira et al. (2004), de que o perfilhamento da cana-de-açúcar pode ocorrer até os quatro meses após o plantio e a partir desse período, inicia-se redução no número de perfilhos

O perfilhamento máximo foi de 37,8 perfilhos m^{-1} para a área com crotalária e cerca de 28,6 perfilhos m^{-1} para a área sem crotalária, observado aos 150 DAP. No final do ciclo, as áreas com e sem crotalária apresentaram, respectivamente, 13,5 e 12,3 perfilhos m^{-1} .

Inicialmente não observou-se diferença no número de perfilhos entre as áreas (Figura 7), porém aos 150 DAP a área com crotalária apresentou maior perfilhamento ($P < 0,01$). Este comportamento possivelmente esteve associado à manutenção da umidade na área com rotação com crotalária, uma vez que a palhada remanescente nessa área pode ter retardado a perda de água do solo, especialmente por se tratar de um ano com déficit hídrico (Figura 1).

O pico de perfilhamento ocorreu entre 120 e 180 DAP para ambas áreas, os quais diferiram entre si quanto ao número de perfilhos por metro ($P < 0,01$). Depois de

atingindo o pico de perfilhamento, houveram duas fases distintas de redução da população de perfilhos. Inicialmente, sob queda mais acentuada, até cerca de 270 DAP, e em seguida, outra menos intensa até a estabilização do número final de perfilhos.

Tabela 9 – Dinâmica de perfilhos de cana-de-açúcar em função das épocas de avaliação e da rotação com crotalária

Épocas	Rotação com crotalária			
	Com		Sem	
	Perfilhos m ⁻¹			
Jul/13	10,3	Af	11,4	Ae
Ago/13	23,1	Ac	22,7	Ab
Set/13	37,8	Aa	28,6	Ba
Out/13	27,7	Ab	25,3	Aab
Nov/13	30,1	Ab	23,3	Bb
Dez/13	23,4	Ac	24,3	Aab
Jan/14	17,3	Ad	16,3	Bc
Fev/14	16,5	Ad	16,5	Ac
Mar/14	14,4	Ae	13,6	Ad
Jul/14	13,5	Ae	12,3	Ae
P _{Manejo}	0.005			
P _{Época}	<0.001			
P _{Manejo*Época}	<0.001			

Médias seguidas da mesma letra minúsculas na linha (comparação entre épocas dentro de cada nível de manejo) e maiúscula na coluna (comparação entre manejos dentro de cada nível de época) não diferem entre si (P>0,10). C.V (%): Coeficiente de Variação

Figura 7 - Evolução do número de perfilho por metro em função da época de avaliação para o manejo com crotalaria e sem crotalaria

4.2.2 Índice SPAD e teor foliar de N

A análise de variância mostrou efeito significativo ($P < 0,1$) apenas para dose de N no manejo sem crotalaria para o índice SPAD. Deste modo, o modelo que melhor descreveu o efeito da dose de N sobre o índice SPAD foi o modelo linear crescente (Figura 8 A). Este comportamento deve-se ao N, que participa da síntese e da estrutura das moléculas de clorofila, de modo que o aumento do suprimento de N às plantas, até determinado limite, proporciona incremento no teor de clorofila e intensidade de cor verde nas folhas da planta (FONTES; ARAÚJO, 2007).

Na área com crotalaria o índice SPAD não aumentou com a dose de N aplicada. Essa falta de resposta pode ser atribuída a baixa sensibilidade do medidor de clorofila ao consumo excessivo de N pelas plantas nas parcelas com rotação com crotalaria e aplicação de fertilizante nitrogenado. Quando absorvido em excesso o N acumula-se na forma de nitrato e, nessa forma, o N não se associa à molécula de clorofila e não pode ser quantificado pelo medidor de clorofila (DWYER et al., 1995).

Outra possibilidade é devido à falta de resposta no teor foliar de N, não proporcionando diferenças que fossem perceptíveis pela leitura SPAD (VALE;

PRADO, 2009). Wildenfeld (1997) também verificou que o índice SPAD não foi afetado em função da aplicação de N em cana-de-açúcar.

Não obteve-se diferença significativa dos manejos dentro de cada dose (Tabela 10), o que pode ser explicado pela provável contribuição do N oriundo do próprio solo. As doses de N não afetaram os teores foliares de N nas duas áreas (Figura 8 B), assim como, não houve diferença ($P > 0,1$) entre os manejos para as mesmas doses (Tabela 10). Os teores foliares de N total variaram de 18,4 a 20,0 (com crotalária) e 17,7 a 20,1 g kg⁻¹ (sem crotalária), encontrando-se na faixa de suficiência (18-25 g kg⁻¹) para a cultura de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo (RAIJ; CANTARELLA, 1997). No entanto, considera-se este intervalo muito amplo, fazendo-se necessário a realização de mais pesquisas sobre o tema.

Na parcela controle, a ausência de resposta a adubação provavelmente é decorrente do N proveniente do solo ou da reserva do tolete, contribuindo para a nutrição nitrogenada das plantas. Ou ainda da possível fixação biológica de N, uma vez que plantas de cana-de-açúcar estabelecem associações com diversas espécies de bactérias diazotróficas (BODDEY et al., 2003).

Tabela 10 – Índice SPAD e teor foliar de N de cana-de-açúcar em área com crotalária e sem crotalária, submetidos a diferentes doses de N. Os resultados representam média de quatro repetições

Doses de N	Rotação com crotalária			
	Com	Sem	Com	Sem
kg ha ⁻¹	Índice SPAD		N (g kg ⁻¹)	
0	40,5 a	39,1 a	19,1 a	18,7 a
30	41,1 a	40,3 a	19,1 a	17,8 a
60	40,3 a	41,4 a	19,6 a	20,1 a
90	39,7 a	39,9 a	20,0 a	19,5 a
120	42,0 a	40,8 a	18,4 a	19,3 a
P _{Manejo}	0.195		0.687	
P _{Dose}	0.022		0.142	
P _{Manejo*Dose}	0.108		0.445	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,1$). Letras comparam sistema de manejo dentro de cada dose de N

Figura 8 - Índice SPAD (A) e teor foliar de N (B) de cana-de-açúcar em diferentes manejos e doses de N. ns, °, * e ** representam, respectivamente, não significativo e significativos a 10, 5 e 1 % pelo teste F

4.2.3 Teores foliares de amônio (N-NH₄⁺) e nitrato (N-NO₃⁻)

O N-NH₄⁺ e o N-NO₃⁻ são as principais formas de N inorgânico absorvido pelas raízes das plantas. Apesar de ser mais comum neste tipo de estudo a análise do teor total de N nas folhas, neste estudo também foi realizada a quantificação dos teores de N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻. Os teores foliares de N-NH₄⁺ foram, na média, superiores aos teores de N-NO₃⁻ na folha tanto na área com crotalária (2,1 vezes), quanto na área sem crotalária (1,7 vez) (Tabela 11). O N-NO₃⁻ se acumula muito pouco em plantas de cana-de-açúcar, mesmo quando aplicadas altas doses de N, o que sugere que é prontamente metabolizado ao chegar às folhas (ISHIKAWA et al., 2009), além de ser indicativo da absorção preferencial de N na forma amoniacal.

A área com crotalária proporcionou maior acúmulo de N-NH₄⁺ na folha ($p < 0,01$), verificando-se nessa área incremento linear de N-NH₄⁺ (Figura 9 A) com o aumento das doses de N. A crotalária favorece, portanto, o acúmulo de N na forma de N-NH₄⁺ nas folhas de cana-de-açúcar.

A área sem crotalária proporcionou resposta quadrática (Figura 9 A), com o acúmulo máximo de 51,11 mg kg⁻¹ de N-NH₄⁺ para a dose de 65 kg ha⁻¹ de N. O N-NH₄⁺ pode ser absorvido e armazenado no vacúolo sem efeito prejudicial à planta (FORDE, 2000). Porém, segundo Britto e Kronzucker (2001), não é desejável o acúmulo de N-NH₄⁺ nos tecidos foliares, por promover o desacoplamento da

fotofosforilação, inibir a síntese de clorofila e promover a degradação de cloroplastídeos e de proteínas, principalmente estruturais.

Não houve resposta das doses de N no acúmulo de N-NO_3^- na folha na área com rotação com crotalária. Entretanto, na área sem crotalária, verificou-se resposta quadrática (Figura 9 B), com o acúmulo máximo de $31,23 \text{ mg kg}^{-1} \text{ NO}_3^-$, na dose correspondente a $66,4 \text{ kg ha}^{-1}$ de N.

Os menores teores de N-NO_3^- encontrados nas folhas pode indicar maior atividade da redutase do nitrato nas áreas com crotalária, porém é necessário verificar a atividade enzimática não somente nas folhas, mas também nas raízes, para averiguar onde sua atividade é maior, nos diferentes manejos utilizados.

Tabela 11 – Teor de N-NH_4^+ e N-NO_3^- nas folhas de cana-de-açúcar em área com crotalária e sem crotalária submetidos a diferentes doses de N. Os resultados representam média de quatro repetições

Doses de N	Rotação com crotalária			
	Com	Sem	Com	Sem
kg ha^{-1}	$\text{N-NH}_4^+ (\text{mg kg}^{-1})$		$\text{N-NO}_3^- (\text{mg kg}^{-1})$	
0	48,9 a	43,7 a	26,4 a	24,0 a
30	49,8 a	50,7 a	30,9 a	31,0 a
60	54,8 a	50,3 a	27,7 a	30,1 a
90	55,2 a	49,6 a	24,5 b	30,1 a
120	62,7 a	46,8 b	24,5 a	27,3 a
P_{Manejo}	0.038		0.096	
P_{Dose}	0.090		0.069	
$P_{\text{Manejo} \times \text{Dose}}$	0.115		0.417	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,1$). Letras comparam sistema de manejo dentro de cada dose de N.

Figura 9 – Teor de N-NH_4^+ (A) e N-NO_3^- (B) em folhas de cana-de-açúcar em diferentes manejos e doses de N. ns, °, * e ** representam, não significativo e significativo a 10, 5 e 1 % pelo teste F

4.2.4 Acúmulo de N

O acúmulo de N não foi influenciado pela adubação nitrogenada, nem pelo manejo em todos os compartimentos da planta, com exceção da folha seca (Figura 10).

Avaliando-se a distribuição do N na planta, observou-se que, de modo geral, o colmo alocou as maiores quantidades de N (48 %), seguido pela folha seca (31 %) e ponteiro (21 %) (Tabela 12). A mesma tendência de acúmulo foi verificado por Oliveira (2008). Porém, diferente dos resultados obtidos neste trabalho, Franco (2008) observou maior distribuição de N no ponteiro do que na folha seca (55 % nos colmos, 29 % no ponteiro e 16 % na folha seca), a mesma tendência de distribuição observada por Correia (2012). O estresse hídrico ocorrido na maior parte do ciclo (Figura 1) pode ter favorecido maior secamento das folhas neste estudo, justificando a maior porcentagem de N alocada neste compartimento.

A aplicação de N proporcionou redução linear do acúmulo do mesmo na folha seca, devido ao N anteriormente alocado nas folhas velhas, entrarem em senescência, ocasionando a redistribuição para outras partes como raízes, rizomas e

folhas secas em função da alta mobilidade nas plantas (MALAVOLTA, 2006; EPSTEIN, BLOOM 2006).

Neste experimento, o acúmulo de N no colmo variou de 55 a 62 e de 53 a 70 kg ha⁻¹, na área sem crotalaria e com crotalaria, respectivamente. Gomes (2003) em cultivo de doze variedades de cana-de-açúcar, em dois solos, verificou o acúmulo de N no colmo variando de 34,4 a 104,9 kg ha⁻¹, resultados próximos ao encontrados neste trabalho. A variação de acúmulo de N deve-se pela diferença das variedades na eficiência de utilização do nutriente, além disso, depende do solo, ano agrícola e das práticas culturais (GOMES, 2003).

Diversos estudos têm verificado aumento no acúmulo de N com aumento das doses deste nutriente (KORNDORFER et al., 1997; BOLONGANA-CAMPBELL, 2007). No entanto, neste trabalho não se verificou essa tendência. Como mencionado anteriormente, este fato pode ser atribuído as condições de fertilidade da área além do aporte de N pela leguminosa em uma das áreas, contribuindo para que não ocorra acúmulo de N, mesmo com sua aplicação.

A ausência de efeito das doses de N no acúmulo de N nos compartimentos da planta neste estudo indicam que a quantidade de N fornecida por meio da mineralização do N da MOS, assim como de outras fontes como fixação biológica de N e reserva de N nos toletes, foram suficientes para disponibilizar todo o N requerido pela planta. Nesse sentido, não espera-se grandes efeitos do N aplicado via fertilizantes na produtividade de colmos, uma vez que este solo parece estar disponibilizando a quantidade de N requerida pela cultura.

Tabela 12 – Acúmulo de N nos diferentes compartimentos da cana-de-açúcar em função da rotação com crotalária e doses de N. Os resultados representam média de quatro repetições

Rotação com crotalária								
Doses de N	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
	Ponteiro		Folha seca		Colmo		Parte aérea	
kg ha ⁻¹	kg ha ⁻¹							
0	29,5 a	27,3 a	38,3 a	40,2 a	53,0 a	61,8 a	121 a	129 a
30	25,6 a	29, 0 a	35,7 b	47,9 a	69,8 a	69,3 a	131 a	139 a
60	27,4 a	25,8 a	38,4 a	41,3 a	61,4 a	58,9 a	127 a	126 a
90	32,2 a	23,2 a	52,4 a	28,7 b	68,7 a	55,3 a	153 a	107 b
120	25,2 a	22,8 a	36,3 a	36,9 a	61,4 a	59,8 a	123 a	119 a
P _{Manejo}	0.520		0.634		0.318		0.286	
P _{Dose}	0.950		0.764		0.533		0.684	
P _{Manejo*Dose}	0.877		0.003		0.279		0.060	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,1$). Letras comparam sistema de manejo dentro de cada dose de N.

Figura 10 – Acúmulo de N no ponteiro (A), folha seca (B), colmo (C) e parte aérea (D) de cana-de-açúcar em diferentes manejos e doses de N. ns, °, * e ** representam, não significativo e significativo a 10, 5 e 1 % pelo teste F

4.2.5 Produtividade de colmos

A hipótese deste trabalho é de que a rotação com crotalária irá aumentar a disponibilidade do N no solo e reduzir a resposta da cana-planta à adubação nitrogenada de plantio. Os resultados de produtividade de colmos obtidos neste estudo permitem afirmar que a hipótese deste trabalho foi aceita, uma vez que houve resposta à adubação nitrogenada de plantio somente na área sem rotação com crotalária (Figura 11). Na área com rotação com crotalária, não houve efeito das doses de N na produtividade de colmos.

Na área sem rotação, as doses de N promoveram efeito quadrático na produtividade de colmos (Figura 11). Dessa forma, a equação ajustada aos dados experimentais, indicou que as maiores respostas foram encontradas nas doses iniciais atingindo a máxima (129 Mg ha^{-1}) com a dose de $72,6 \text{ kg ha}^{-1}$ de N, e decrescendo com o aumento da quantidade de N aplicada. Teshome et al. (2014), verificaram que a maior dose de N (138 kg ha^{-1}) proporcionou a menor produtividade da cana-de-açúcar, o autor explica que é devido ao efeito do N quando aplicado em doses mais elevadas.

Azeredo et al. (1986) analisando 135 experimentos relacionados a aplicação de N em cana planta, observaram respostas significativa em somente 19. Entretanto, em pesquisas mais recentes tem-se encontrado respostas da produtividade em função da adubação nitrogenada (BOLOGNA-CAMPBELL, 2007; FRANCO et al., 2010). Diversos fatores afetam a resposta da cana-planta ao N, incluindo o tipo de preparo do solo adotado, ao estoque de N na MOS, a textura do solo e também ao histórico de rotação com adubos verdes.

Em relação ao efeito do manejo para cada dose de N, verificou-se diferença apenas no controle (sem adubação nitrogenada) (Tabela 13). A crotalária proporcionou aumento na produtividade em 13 % (15 Mg ha^{-1}) comparada ao manejo sem rotação. Este efeito pode ser atribuído principalmente à disponibilidade de N pela crotalária, suprimindo a demanda da cana. Ou seja, observa-se o efeito favorável da rotação com crotalária na produtividade de colmos, mesmo em um solo com elevado estoque de N na MOS.

Desta maneira a *Crotalaria juncea* demonstrou ser uma eficiente técnica de adubação verde, podendo substituir totalmente a adubação nitrogenada de plantio. Esses resultados foram semelhantes aos obtidos por Ambrosano et al (2010), que sugerem que a rápida decomposição dos adubos verdes fornecem a quantidade total de N requerido pela cana-planta.

Em áreas com rotação com crotalária ou outros adubos verdes, já é comum os produtores não realizarem aplicação de fertilizantes nitrogenados no plantio, devido à ausência de resposta ao N nestas condições. O que ainda não se sabe é se este efeito pode perdurar também nos ciclos subsequentes, ou seja, se também é possível reduzir a adubação nitrogenada de soqueira em áreas que receberam adubação verde na renovação do canavial. Este é um tema interessante para estudos futuros, visando reduzir custos com fertilizantes nitrogenados e mantendo a produtividade do canavial.

Tabela 13 – Produtividade de cana-de-açúcar em função da rotação com crotalária e doses de N. Os resultados apresentam médias de quatro repetições

Doses de N	Com Crotalária	Sem Crotalária
kg ha ⁻¹	Produtividade (Mg ha ⁻¹)	
0	129 a	114 b
30	121 a	124 a
60	123 a	130 a
90	128 a	127 a
120	133 a	123 a
P _{Manejo}	0.242	
P _{Dose}	0.514	
P _{Manejo*Dose}	0.086	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,1). Letras comparam sistema de manejo dentro de cada dose de N.

Figura 11 – Produtividade de cana-de-açúcar em diferentes manejos e doses de N. ns, °, * e ** representam, não significativo e significativo a 10, 5 e 1 % pelo teste F

4.2.6 Atributos tecnológicos

Os atributos tecnológicos analisados na colheita da cana-de-açúcar não apresentaram diferenças ($P < 0,1$) para nenhuma das variáveis em estudo (Tabela 14). Orlando Filho e Zambello Junior (1980); Azeredo et al. (1986); Trivelin et al. (2002) e Costa et al. (2003) observaram que a adubação nitrogenada não afetou a qualidade tecnológica da cana-de-açúcar. Costa et al. (2003) verificaram que a aplicação de 100 kg ha⁻¹ de N não afetou a qualidade tecnológica.

A adubação nitrogenada não proporcionou aumento nos valores de sólidos solúveis (°Brix %) (Figura 12 C). Resultado semelhante foi obtido por Silva (2004) trabalhando com diferentes doses de N e por Anjos et al. (2007), que também não verificaram efeitos da adubação nitrogenada neste parâmetro. O Brix na área com e sem crotalária foi de 19,7 e 19,5 % respectivamente, semelhante à média (19,08 %) encontrada por Azevedo (2002) trabalhando com cana planta.

O teor de fibra pode variar de 9 a 10 % (SCARPARI; BEUCLAIR, 2008), muito próximo dos valores encontrados neste estudo, que foi de 10,4 e 10,6% respectivamente para a área com e sem crotalária (Figura 12 B).

A pureza da cana (Figura 12 D) apresentou valores acima do observado por Dalchiavon et al. (2014), e semelhante aos encontrados por Correia et al (2014) em um Argissolo Vermelho Amarelo. Para o ATR verificou-se um valor médio entre as áreas de 149,7 kg Mg⁻¹ (Figura 12 A), estando acima da média nacional que é de 135,7 kg Mg⁻¹ (CONAB 2013), acima do valor obtido por Carvalho et al. (2011) de 117,6 kg Mg⁻¹ e semelhante ao observado por Alves (2014).

Tabela 14 – Atributos tecnológicos de cana-de-açúcar em função da rotação com crotalária e doses de N. Os resultados representam média de quatro repetições

Dose de N	Rotação com crotalária							
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
	ATR		Fibra		Brix		Pureza	
kg ha ⁻¹	kg Mg ⁻¹				%			
0	149 a	150 a	10,2 a	10,7 a	19,4 a	19,7 a	88,5 a	88,2 a
30	148 a	152 a	10,4 a	10,7 a	19,4 a	20,0 a	88,3 a	88,4 a
60	151 a	149 a	10,3 a	10,5 a	19,7 a	19,6 a	88,0 a	88,1 a
90	146 a	151 a	10,5 a	10,6 a	19,4 a	19,8 a	86,2 a	88,1 a
120	151 a	150 a	10,6 a	10,5 a	19,8 a	19,7 a	88,5 a	88,1 a
P _{Manejo}	0.345		0.088		0.203		0.2467	
P _{Dose}	0.812		0.832		0.908		0.7979	
P _{Manejo*Dose}	0.473		0.587		0.360		0.459	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,1). Letras comparam sistema de manejo dentro de cada dose de N.

Figura 12 – Atributos tecnológicos [ATR (A), Fibra (B), BRIX (C) e pureza (D)] de cana-de-açúcar em diferentes manejos e doses de N. ns, °, * e ** representam, não significativo e significativo a 10, 5 e 1 % pelo teste F

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em folhas de cana-de-açúcar há predomínio de N na forma de N-NH_4^+ em relação a N-NO_3^- e a rotação com crotalária aumenta a concentração foliar de N-NH_4^+

Houve variação temporal dos teores de N-NH_4^+ e $\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$ no solo durante o ciclo, porém sem efeito significativo da rotação com crotalária

O teor de N-ISNT variou na camada de 0 a 20 cm durante o ciclo, porém não diferiu entre a área com e sem rotação com crotalária

A rotação com crotalária interfere mais no nitrogênio da biomassa microbiana do que no carbono da biomassa microbiana

A rotação com crotalária aumentou o perfilhamento da cana-de-açúcar no início do ciclo

A rotação com crotalária reduziu a resposta da cana-planta à adubação nitrogenada e apresentou potencial em aumentar a produtividade do canavial

REFERÊNCIAS

- AITA, C.; PORTO, O.; GIACOMINI, S.J. Dinâmica do nitrogênio no solo e produção de fitomassa por plantas de cobertura no outono/inverno com o uso de dejetos de suínos. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 901-910, 2006.
- ALEF, K. Estimation of soil respiration. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Eds.). **Methods in soil microbiology and biochemistry**. New York: Academic, 1995. p. 464-470.
- ALMEIDA, D.; KLAUBERG FILHO, O.; FELIPE, A.F.; ALMEIDA, H.C. Carbono, nitrogênio e fósforo microbiano do solo sob diferentes coberturas em pomar de produção orgânica de maçã no sul do Brasil. **Bragantia**, Campinas, v. 68, p. 1069-1077, 2009.
- ALVES, B.J.R. **Avaliação da mineralização do N do solo in situ**. 1992. 177 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia, área de concentração em Ciência do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1992.
- ALVES, T.D.S.; CAMPOS, L.L.; NETO, N.E.; MATSUOKA, M.; LOUREIRO, M.F. Biomassa e atividade microbiana de solo sob vegetação nativa e diferentes sistemas de manejos. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 33, p. 341-347, 2011.
- ALVES, V.; MONTANARI, R.; CARVALHO, M.P.; CORREA, A.R.; ROQUE, C.G. Atributos tecnológicos, stand e produtividade da cana-planta correlacionados com aspectos da fertilidade do solo em Chapadão do Céu (GO). **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 1, p. 75-91, 2014.
- AMADO, T.J.C.; BAYER, C.; ELTZ, F.L.F.; BRUM, A.C.R. Potencial de culturas de cobertura em acumular carbono e nitrogênio no solo no plantio direto e a melhoria da qualidade ambiental. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, p. 189-197, 2001.
- AMBROSANO, E. J.; CANTARELLA, H.; AMBROSANO, G. M. B.; SCHAMMASS, E. A.; DIAS, F. L. F.; TRIVELIN, P. C. O.; MURAOKA, T.; ROSSI, F.; AZCÓN R. Produtividade da cana-de-açúcar após o cultivo de leguminosas. **Bragantia**, Campinas, v. 70, p. 810-818, 2011.
- AMBROSANO, E.J.; AZCÓN, R.; CANTARELLA, H.; AMBROSANO, G.M.B.; SCHAMMASS, E.A.; MURAOKA, T.; TRIVELIN, P.C.O.; ROSSI, F.; GUIRADO, N.; UNGARO, M.R.G.; TERAMOT, J.R.S. Crop rotation biomass and arbuscular mycorrhizal fungi effects on sugarcane yield. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, n. 6, p. 692-701, 2010.
- AMBROSANO, E.J.; CANTARELLA, H.; ROSSI, F.; SCHAMMASS, E.A.; SILVA, E.C.; AMBROSANO, G.M.B.; DIAS, F.L.F.; TRIVELIN, P.C.O.; MURAOKA, T. Desempenho de adubos verdes e da primeira soqueira de cana-de-açúcar cultivados consorciadamente. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 8, p. 80-90, 2013.

AMBROSANO, E.J.; TRIVELIN, P.C.O.; CANTARELLA, H.; AMBROSANO, G.M.B.; SCHAMMASS, E.A.; GUIRADO, N.; ROSSI, F.; MENDES, P.C.D.; MURAOKA, T. Utilization of nitrogen from green manure and mineral fertilizer by sugarcane. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, p. 534-542, 2005.

ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. Quantities of plant nutrients in the microbial biomass of selected soils. **Soil Science**, Philadelphia, v. 130, p. 211-216, 1980.

ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient of CO₂ (q CO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental condition, such as pH, on the microbial of forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.

ANJOS, I.A.; ANDRADE, L.A.B.; GARCIA, J.C.; FIGUEIREDO, P.A.M.; CARVALHO, G.J. Efeitos da adubação orgânica e da época de colheita na qualidade da matéria-prima e nos rendimentos agrícola e de açúcar mascavo artesanal de duas cultivares de cana-de-açúcar (cana-planta). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, p.59-63, 2007.

ARANDA, V.; AYORA-CAÑADA, M.J.; DOMINGUEZ-VIDAL, A.; MARTÍN-GARCÍA, J.M.; CALERO, J.; DELGADO, R.; VERDEJO, T. & GONZÁLEZ-VILA, F.J. Effect of soil type and management (organic vs. conventional) on soil organic matter quality in olive groves in a semi-arid environment in Sierra Mágina Natural Park (Spain). **Geoderma**, Amsterdam, v. 164, n. 1-2, p. 54-63, 2011.

ARCENEUX, G.; MCKAIG, N.Jr; STOKES, I.E. Studies of soybeans and other green manure crops for sugarcane plantations. **Journal of the American Society of Agronomy**, Washington, v.24, p. 354-363, 1932.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS. **Anuário Estatístico do Setor de Fertilizantes**. São Paulo: ANDA, 2010. 178 p.

AZEREDO, D.F.; BOLSANELLO, J.; WEBER, H.; VIEIRA, J.R. Nitrogênio em cana-planta, doses e fracionamento. **STAB, Açúcar, Alcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.4, p. 26-32, 1986.

AZEVEDO, H.M. de. **Resposta da Cana-de-açúcar a níveis de irrigação e de adubação de cobertura nos tabuleiros costeiros da Paraíba**. 2002. 112 p. (Tese Doutorado) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2002.

BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; DICK, R.P. Microbial biomass in soils under different tillage and crop rotation systems. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 38, p. 15-20, 2003.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. Jaboticabal: FUNEP, 2006, 237 p.

BARDGETT, R. D.; SAGGAR, S. Effect of heavy metal contamination on the short-term decomposition of labelled (14C) in a pasture soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v.26, p. 727-733, 1994.

BARKER, D.W.; SAWYER, J. E.; AL-KAISI, M. M. Assessment of the amino sugar-nitrogen test on Iowa soils: I. Evaluation of soil sampling and corn management practices. **Agronomy Journal**, Madison, v. 98, p. 1345-1351, 2006.

BLANKENAU, K.; OLFS, H.W.; KUHLMANN, H. Effect of microbial nitrogen immobilization during the growth period on the availability of nitrogen fertilizer for winter cereals. **Biology and Fertility of Soils**, New York v.32, p.157-165, 2000.

BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.R.; REIS, V. Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, The Hague, v. 252, p. 139-149, 2003.

BOLOGNA-CAMPBELL, I. **Balanço de nitrogênio e enxofre no sistema solo-cana-de-açúcar no ciclo de cana-planta**. 2007. 112 p. Tese (doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.

BOUWMAN, A.F.; STEHFEST, E.; VAN KESSEL, C. Nitrous oxide emissions from the nitrogen cycle in arable agriculture: Estiation and mitigation. In: SMITH, K.A. (Ed.). **Nitrous oxide and climate change**. London: Earthscan, 2010. p. 85-106.

BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. Constancy of nitrogen turnover kinetics in the plant cell: insights into the integration of subcellular N fluxes. **Planta**, Berlin, v. 213, p. 175-181, 2001.

BRUM, A.C.R. **Efeito de manejo e exploração agrícola na densidade populacional de bactérias nitrificadoras, em solo da unidade de mapeamento Santo Ângelo**. Santa Maria. 1975, 64p. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria. 1975

CAMPANHA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Acompanhamento de safra 2014/2015**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t=2>> Acesso em 21 abr. 2015.

CANTARELLA, H.; ROSSETTO, R. Fertilizers for sugar cane. In: CORTEZ, L.A.B. (ed.). **Sugarcane bioethanol**. São Paulo: Blucher, p. 405-422, 2010.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.; CONTIN, T.L.M.; DIAS, F.L.F.; ROSSETTO, R.; MARCELINO, R.; COIMBRA, R.B.; QUAGGIO, J.A. Ammonia volatilisation from urease inhibitor-treated urea applied to sugarcane trash blankets. **Scientia Agricola**. Piracicaba, v. 65, p. 397-401, 2008.

CARDOSO, E.M. **Contribuição para o estudo da adubação verde dos canaviais**. 1956. 109 p. Tese (Doutorado na área de Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1956.

CARVALHO, L.A.; JUNIOR, C.A.S.; NUNES, W.A.G.A.; MEURER, I.; JÚNIOR, W.S.S. Produtividade e viabilidade econômica da cana-de-açúcar em diferentes

sistemas de preparo do solo no Centro-Oeste do Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 34, p. 199-211, 2011.

CASTRO, P.R.C. Aplicações da fisiologia vegetal no sistema de produção da cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE FISILOGIA DA CANA-DE-AÇÚCAR, 2000, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: STAB, 2000. p. 1-9.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar, segundo levantamento, agosto/2013** - Companhia Nacional de Abastecimento. – Brasília: Conab, 2013. 19 p.

CORREIA, C.B.G.; AZEVEDO, H.M.; DANTAS NETO, J.; CARVALHO, C.M.; SILVA, L.L.; FEITOSA, S.O. Cana-de-açúcar: parâmetros tecnológicos em função de diferentes lâminas de irrigação e adubação de cobertura. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, Fortaleza, v. 8, p. 26-37, 2014.

CORREIA, M.A.R. **Nitrogênio em soqueiras de cana-de-açúcar cultivada em sistema conservacionista**. 2012. 85 p. Tese (Doutorado em produção vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.

COSTA, M.C.G.; VITTI, G.C.; CANTARELLA, H. Volatilização de N-NH₃ 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.

CRUTZEN, P.J.; MOSIER, A.R.; SMITH, K.A. N₂O release from agro-biofuel production negates global warming reduction by replacing fossil fuels. **Atmospheric Chemistry and Physics**, Munich, v.8, p. 389-395, 2008.

CUNHA, E.Q.; STONE, L.F.; FERREIRA, E.P.B.; DIDONET, A.D.; MOREIRA, J.A.A.; LEANDRO, W.M. Sistemas de preparo do solo e culturas de cobertura na produção orgânica de feijão e milho. II – Atributos biológicos do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, p. 603-611, 2011.

CZYCZA, R.V. **Quantidade e qualidade da matéria orgânica do solo em sistemas de colheita com e sem queima da cana-de-açúcar**. 2009. 92 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2009.

DALCHIAVON, F.C.; CARVALHO, M.P.; MONTANARI, R.; ANDREOTTI, M.; PANOSSO, A.R. Produtividade da cana-de-açúcar: variabilidade linear e Espacial entre componentes tecnológicos e da produção. **Bioscience Journal**, Uberlândia-MG, v. 30, p. 390-400, 2014.

D'ANDRÉA, A.F.; SILVA, M.L.N.; CURI, N.; SIQUEIRA, J.O.; CARNEIRO, M.A.C. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na região do cerrado no sul do Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, p. 913-923, 2002.

DELBEM, F.C.; SCABORA, M.H.; FILHO, C.V.S.; HEINRICHS, R.; CROCIOLLI, C.A.; CASSIOLATO, A.M.R. Fontes e doses de adubação nitrogenada na atividade microbiana e fertilidade do solo cultivado com *Brachiaria brizantha*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 33, p. 361-367, 2011.

DIAS, P.F.; SOUSA, S.M. **Produção de fitomassa e nitrogênio de adubo verde no município de Paty do Alferes-RJ**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia. Documentos, 2004. v. 178, 16 p.

DUDA, G.P.; GUERRA, J.MG.; MONTEIRO, M.T.; DE-POLLI, H.; TEIXEIRA, M.G. Perennial herbaceous legumes as live soil mulches and their effects on C, N and P of the microbial biomass. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, p. 139-147, 2003.

DWYER, L.M.; ANDERSON, A.M.; MA, B.L.; STEWART, D.W.; TOLLENAAR, M.; GREGORICH, E. Quantifying the nonlinearity in chlorophyll meter response to corn leaf nitrogen concentration. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 75, 179-182, 1995.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Manual de métodos de análises de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997. 212 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3.ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 2013. 353 p.

EPSTEIN, E; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2. ed. Londrina: Planta, 2006. cap. 3, p. 42-65.

FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C.; JONES, C.A **Growth and mineral nutrition of field crops** (3ª Ed). Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2011. 560 p.

FERNANDES, A.C. **Cálculos na agroindústria da cana de açúcar**. 3.ed. Piracicaba: Sociedade dos técnicos Açucareiros Alcooleiros do Brasil. 2011. 416 p.

FOLLET, R.F.; SCHIMEL, D.S. Effect of tillage practices on microbial biomass dynamics. **Soil Science Society of America Journal**, Madison v. 53, p. 1091- 1096, 1989.

FONTES PCR; ARAÚJO C. 2007. **Adubação nitrogenada de hortaliças: princípios e práticas com o tomateiro**. Viçosa: UFV, 2007. 148 p.

FORDE, B.G. Nitrate transportes in plants: structure, function and regulation. **Biochimica et Biophysica acta**, Dresden, v. 1465, p. 219-235, 2000.

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

FRANCO, H.C.J.; **Eficiência agrônômica da adubação nitrogenada de cana-planta**. 2008. 112 p. Tese (Doutorado em solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008a.

FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C.; OTTO, R. Stalk yield and technological attributes of planted cane as related to nitrogen fertilization. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, p. 579-590, 2010.

FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C.; OTTO, R.; FARONI, C.E.; SARTORI, R.H.; TRIVELIN, M.O. Acúmulo de nutrientes pela cana-de-açúcar. **STAB. Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 26, p. 47- 51, 2008b.

GARSIDE, A.L.; BELL, M.J. Fallow legumes in the Australian sugar industry: Review of recent research findings and implications for the sugarcane cropping system. **Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technologists**, Brisbane, v. 23, p. 230-235, 2001.

GIFFORD, R.M.; BARRET, D.J.; LUTZE, J.L. The effects of elevated [CO₂ on the C:N and C:P mass ratios of plant tissues. **Plant and Soil**, The Hague, v. 224, p. 1-14, 2000.

GIRACCA, E.M.N. **Efeito do calcário em atributos biológicos do solo**. 2005. 61p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Santa Maria, 2005.

GOLDEMBERG, J. Ethanol for a sustainable energy future. **Science**, New York, v. 315, p. 808-810, 2007.

GOMES, J.F.F. **Produção de colmos e exportação de macronutrientes primários por cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)**. 2003. 75 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

GRIFFIN, T.S. Nitrogen availability. In: SCHEPERS, J.S.; RAUN, W.R. (Ed) **Nitrogen in agricultural systems (Agronomy Monograph)**. Madison: American Society of Agronomy, 2008. Chap. 49. p. 613-649.

HOEFT, R.G.; MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A. Update on the Illinois N test. In: BUNDY L ; HUNSIGI, G (Ed). **Production of sugarcane: Theory and practice**. Berlin: Springer-Verlag, 2011. 245 p.

ISHIKAWA, S.; ANDO, S.; SAKAIGAICHI, T., TERAJIMA, Y.; MATSUOKA, M. Effects of high nitrogen application on the dry matter yield, nitrogen content and nitrate-N concentration of sugarcane. **Soil Science and Plant Nutrition**, Weinheim, v. 55, p. 485-495, 2009.

JOERGENSEN, R.G. Organic matter and micro-organisms in tropical soils. In: DION, P. (Ed.). **Soil Biology and Agriculture in the Tropics**. Berlim: Springer, 2010. Chap. 2, p. 17-44.

JOERGENSEN, R.G.; BROOKES, P.C. Ninhydrin-reactive nitrogen measurements of microbial biomass in 0.5 M K₂SO₄ soil extracts. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 22, p. 1023-1027, 1990.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 42, p. 1-13, 2010.

KAUTZ, T.; WIRTH, S.; ELLMER, F. Microbial activity in a sandy arable soil is governed by the fertilization regime. **European Journal of Soil Biology**, Montrouge, v. 40, p. 87-94, 2004.

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 American Journal**, Madison, v.65, p. 1751-1760, 2001.

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

KORNDÖRFER, G.H.; COLOMBO, C.A.; CHIMELLO, M.A.; LEONI, P.L.C. Desempenho de variedades de cana-de-açúcar cultivadas com e sem nitrogênio. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE DOS TÉCNICOS ACÚCAREIROS E ALCOOLEIROS DO BRASIL, 2002, Recife. **Anais...** Piracicaba: STAB, 2002. p. 234-238.

KORNDÖRFER, G.H.; VALLE, M.R.; MARTINS, M.; TRIVELIN, P.C.O. Aproveitamento do nitrogênio da uréia pela cana-planta. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, v. 21. p. 23-26, 1997.

KWON, H.Y.; HUDSON, R.J.M.; MULVANEY, R.L. Characterization of the organic nitrogen fraction determined by the Illinois soil nitrogen test. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 73, p. 1033-1043, 2009.

LEDGARD, S.F.; JARVIS, S.C.; HATCH, D.J. Short-term nitrogen fluxes in grassland soils under different long-term nitrogen management regimes. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 30, p. 1233-1241, 1998.

LUZ, P.H.C.; VITTI, G.C.; QUINTINO, T.A.; OLIVEIRA, D.B. **Utilização de adubação verde na cultura da cana-de-açúcar**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2005. 53 p.

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**, Oxford, v. 32, p. 582-595, 2008.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 201 p.

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.

MARRIOTT, E.E.; WANDER, M.M. Total and labile soil organic matter in organic and conventional farming systems. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 70, p. 950–959, 2006.

MARSCHNER, P. **Marchner's mineral nutrition of higher plants**. 3th ed. Oxford: Elsevier, 2012. 643 p.

MARTINELLI, L.A.; COLETTA, L.D.; RAVAGNANI, E.C.; CAMARGO, P.B.; OMETTO, J.P.; FILOSO, S.; VICTORIA, R.L. Dissolved nitrogen in rivers: comparing pristine and impacted regions of Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 70, p. 709-722, 2010.

MATTOS JÚNIOR, D.; CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van. Manuseio e conservação de amostras de solo para preservação de nitrogênio inorgânico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.19, p.423-431, 1995.

MEYER, J.H.; WOOD, R.A. Nitrogen management of sugar cane in South Africa. **Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technologists**, Brisbane, v. 15, p. 93-104, 1994.

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 American Journal**, Madison, v. 65, p. 1164-1172, 2001.

NASS, L.L.; PEREIRA, P.A.A.; ELLIS, D. Biofuels in Brazil: An Overview. **Crop Science**, Madison, v. 47, p. 2228-2237, 2007.

NORTON, J.M. Nitrification. In: SUMMER, M.E., (Ed.). **Handbook of soil science**. Boca Raton: CRC Press, 2000. p.160-181.

OLIVEIRA, E.C.A. **Dinâmica de nutrientes em cana-de-açúcar em sistema irrigado de produção**. 2008. 78 p. Dissertação (Mestrado em agronomia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008.

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

OLIVEIRA, F.C.; MATTIAZZO, M.E.; MARCIANO, C.R.; MORAES, S.O. Lixiviação de nitrato em um Latossolo Amarelo distrófico tratado com lodo de esgoto e cultivado com cana-de-açúcar. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.58, p.171-180, 2001.

OLIVEIRA, R.A.; DAROS, E.; ZAMBON, J.L.C.; WEBER, H.; IDO, O.I.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; KOELER, H.S.; SILVA, D.K.T. Crescimento e desenvolvimento de três cultivares de cana-de-açúcar, cana planta, no Estado do Paraná. **Scientia Agrária**, Curitiba, v. 5. p. 87-94, 2004.

ORLANDO FILHO, J.; ZAMBELLO JUNIOR, E. Efeitos da adubação fosfatada em cana planta. **Saccharum**, Piracicaba, v.9, p. 38-42, 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. 1, p. 1-12, 2013.

OWEN, A.G.; JONES, D.L. Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 33, p. 651-657, 2001.

PARK, S.E.; WEBSTER, T.J.; HORAN, H.L.; JAMES, A.T.; THORBURN, P.J. A legume rotation crop lessens the need for nitrogen fertiliser throughout the sugarcane cropping cycle. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 119, p. 331-341, 2010.

PARKIN, T.B.; DORAN, J.W.; FRANCO-PIZCAY, E. Field and laboratory tests of soil respiration. In: DORAN, J.W.; JONES, A., (Ed.). **Method for assessing soil quality**. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p.231- 245.

PATERSON, E. Importance of rhizodeposition in the coupling of plant and microbial productivity. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 54, p. 741-750, 2003.

PÉREZ, O.; HERNÁNDEZ, F.; LÓPEZ, A.; BALANÁ, P.I.; SOLARES, E.; MALDONADO, A. The use of green manures as an alternative to improve productivity and sustainability of the sugarcane crop. **Sugar Journal**, New Orleans, v. 70, p. 14-21, 2008.

PERIN, A.; GUERRA, J.G.M.; TEIXEIRA, M.G. Cobertura do solo e acumulação de nutrientes pelo amendoim forrageiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38. p. 791-796, 2003.

PERIN, A.; SANTOS, R.H.S.; URQUIAGA, S.; GUERRA, J.G.M.; CECON, P.R. Produção de fitomassa, acúmulo de nutrientes e fixação biológica de nitrogênio por adubos verdes em cultivo isolado e consorciado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 35-40, 2004.

POLETTI, N.; GROHS, D.S.; MUNDSTOCK, C.M. Flutuação diária e sazonal de nitrato e amônio em um argissolo vermelho distrófico típico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa, v.32, p.1619-1626, 2008.

PORT, O.; AITA, C.; GIACOMINI, S.J. Perda de nitrogênio por volatilização de amônia com o uso de dejetos de suínos em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, p.857-865, 2003.

PRADO, R.M.; PANCELLI, M.A. Resposta de soqueiras de cana-de-açúcar à aplicação de nitrogênio em sistema de colheita sem queima. **Bragantia**, Campinas, v. 67, p. 951-959, 2008.

QUAGGIO, J.A.; RAIJ, B.V.; MALAVOLTA, E. Alternative use of SMP buffer solution to determine lime requirement of soils. **Communications Soil Science Plant Analysis**, New York, v. 16, p. 245-260, 1985.

RABBINGE, R. The ecological background of food production. Crop protection and sustainable agriculture. In: CROP PROTECTION AND SUSTAINABLE AGRICULTURE. CIBA FOUNDATION SYMPOSIUM, 1993, New York. **Anais...** New York, 1993. p. 2-23.

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

RAIJ, B.van.; CANTARELLA, H. Outras culturas industriais. In: RAIJ, B.van.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C., (Eds.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: IAC, 1997. cap. 2, p.189-203.

RANDALL, G.; VETSCH, J. **University of Minnesota 2002. Assessing soil N availability using the Illinois soil nitrogen test for corn after soybean**. Disponível em : <
http://sroc.cfans.umn.edu/prod/groups/cfans/@pub/@cfans/@sroc/@research/documents/asset/cfans_asset_165290.pdf>. Acesso em: 25 maio 2015.

ROBERTS, T.L.; NORMAN, R.J.; SLATON, N.A.; WILSON JUNIOR, C.E. Changes in alkaline hydrolyzable nitrogen distribution with soil depth: fertilizer correlation and calibration implications. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 73, n. 6, p. 2151-2157, 2009.

ROY, R.N; FINCK, A.; BLAIR, G.J.; TANDON, H.L.S. **Plant nutrition for food security. A guide for integrated nutrient management**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2006. 249 p. (FAO Fertilizer and Plant Nutrition Bulletin, 16).

RUDORFF, B.F.T.; AGUIAR, D.A.; SILVA, W.F.; SUGAWARA, L.M.; ADAMI, M.; MOREIRA, M.A. Studies on the rapid expansion of sugarcane for ethanol production in São Paulo State (Brazil) using Landsat data. **Remote Sensing**, Ottawa, v. 2, p. 1057-1076, 2010.

RUFFO, M.L.; BOLLERO, G.A.; BULLOCK, D.S.; BULLOCK, D.G. Site-specific production functions for variable rate corn nitrogen fertilization. **Precision Agriculture**, Dordrecht, v. 7, p. 327–342, 2006.

SALA, V.M.R.; SILVEIRA, A.P.D.; CARDOSO, E.J.B.N. Bactéria diazotróficas associadas a plantas não-leguminosas. In: SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S. **Microbiologia do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto agrônomo de Campinas, 2007. 312 p.

SALGADO-GARCIA, S.; PALMA-LÓPES, D.J.; ZAVALA-CRUZ, J.; LAGUNES-ESPINOZA, L.C.; CASTELÁN-ESTRADA, M.; ORTIZ-GARCÍA, L.C.; JUÁREZ-LÓPES, J.F.; RUIZ-ROSADO, O.; ARMIDA-ALCUDIA, L.; RINCÓN-RAMÍREZ, J.A. A sustainable fertilisation program for a sugar factory in mexico: a principle for precision agriculture. **Proceeding International Society Sugar Cane Technologists**, Veracruz, v. 27, p. 20-29, 2010.

SALINAS-GARCIA, J.R.; HONS, F.M.; MATOCHA, J.E. Long-term effects of tillage and fertilization on soil organic matter dynamics. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 1, p. 152-159, 1997.

SCAPARI, M.S.; BEUCLAIR, E.G.F. Anatomia e botânica. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônomo de CampinasFundação, 2008. cap. 2, p. 47-56.

SCHJOERRING, J.K.; HUSTED, S.; MACK, G.; MATTSSON, M. The regulation of ammonium translocation in plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 883-890, 2002.

SCHROEDER, B.L.; HUBERT, J.W.; HUBERT, C.; HUBERT.; F.G.; PANITZ, J.H.; WOOD, A.W.; MOODY, P.W. Recognising differences in soil type to guide nutrient inputs on-farm – a case study from Bundaberg. **Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technologist**, Brisbane, v. 29, p. 138-148, 2007.

SCHROEDER, B.L.; PANITZ, J.H.; WOOD, A.W.; MOODY, P.W.; SALTER, B. **Accepting the Adoption of Best-practice Nutrient Management: Wet Tropics**.Brisbane : BSES. 2008. 56 p.

SEGATO, S.V.; MATTIUZ, C.F.M.; MOZAMBANI, A.E. Aspectos fenológicos da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S.V.; PINTO, A.S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J.C.M. (Org). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba, 2006. cap. 2, p.19-36,

SILVA, C.A.; VALE, F.R. Disponibilidade de nitrato em solos brasileiros sob efeito da calagem e de fontes e doses de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v. 35, p. 2461-2471, 2000.

SILVA, C.T.S. da. Efeito de diferentes níveis de adubação, sobre os parâmetros tecnológicos da terceira folha de cana, irrigada nos Tabuleiros Costeiros da Paraíba. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 33. 2004, São Pedro. **Anais...** São Pedro: CONBEA, 2004. 1 CD-Rom.

SILVA, G.; STRACHMAN, E. **Cadeias produtivas do setor sucroalcooleiro: etapas e mudanças tecnológicas em produtos e processos**. Araraquara: UNESP. 2013. Disponível em: <http://prope.unesp.br/xxi_cic/27_36833900850.pdf>. Acesso em: 03 maio 2015.

SILVA, M.A; JERONIMO, E.M.; LÚCIO, A.D. Perfilamento e produtividade de cana-de-açúcar com diferentes alturas de corte e épocas de colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, p. 979-986, 2008.

SIMÕES, M.S.; ROCHA, J.V.; LAMPARELLI, R.A.C. Growth indices and productivity in sugarcane. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.62, p.23-30, 2005.

TASSO JÚNIOR, L.C.; MARQUES, M.O.; CAMILOTTI, F.; SILVA, T. Extração de macronutrientes em cinco variedades de cana-de-açúcar cultivadas na região centro norte do Estado de São Paulo. **STAB. Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 25, p. 38-42, 2007.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174 p.

TESHOME, Z.; ABEJEHU, G.; HAGOS, H. Effect of Nitrogen and Compost on Sugarcane (*Saccharum Officinarum* L.) at Metahara Sugarcane Plantation. **Advances in Crop Science and Technology**, Los Angeles, v.2, p. 153-156, 2014.

THORBURN, P.J.; BIGGS, J.S.; COLLINS, K; PROBERT, M.E. Using the APSIM model to estimate nitrous oxide emissions from diverse Australian sugarcane production systems. **Agriculture Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 134, p. 343-350, 2010.

THORNTHWAITE, C.W.; MATHER, J.R. **The water balance**. Centerton: Drexel Institute of Technology. Laboratory of Climatology, 1995. 104 p.

TRENTO FILHO, E. **Consortiação intercalar em linha com crotalária e feijão guandu anão na soqueira de cana-de-açúcar**. 2009. 28 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2009.

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.637- 646, 2002.

URQUIAGA, S.; XAVIER, R.P.; MORAIS, R.F.; BAPTISTA, R.B.; SCHULTZ, N.; LEITE, J.M.; MAIA e SÁ, J.; BARBOSA, K.P.; RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. Evidence from field nitrogen balance and ^{15}N natural abundance data for the contribution of biological N_2 fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Plant and Soil**, Crawley, v.356, p. 5-21, 2012.

VALE, D. W.; PRADO, R.M. Adubação com NPK e o estado nutricional de 'citrumelo' por medida indireta de clorofila. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 40, p. 266-271, 2009.

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

WIEDENFELD, B. Evaluation of new tools for determining crop nitrogen status and availability. **Subtropical Plant Science**, Welasco, v. 49, p. 46-49, 1997.

WIEDENFELD, B.; ENCISO, J. Sugarcane responses to irrigation and nitrogen in semiarid South Texas. **Agronomy Journal**, Madison, v. 100, p. 665–671, 2008.

WUTKE, E.B. Adubação Verde, manejo da fitomassa e espécies utilizadas no Estado de São Paulo. In: WRITKE, E.B.; BULISANI, E.A.; MASCARENHAS, H.A.A. **Curso de adubação verde no Instituto Agronômico**. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, p.17-29, 1993.

XAVIER, R.P. **Adubação verde em cana-de-açúcar**: influência na nutrição nitrogenada e na decomposição dos resíduos da colheita. 2002. 108 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia, área de concentração em Ciência do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2002.

ZAMAN, M.; CAMERON, K.C.; DI, H.J.; INUBUSHI, K. Changes in mineral N, microbial biomass and enzyme activities in different soil depths after surface applications of dairy shed effluent and chemical fertilizer. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 63, p. 275-290, 2002.