UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

ADELAINE MICHELA E SILVA FIGUEIRA

O cultivo da soja na região sudeste da Amazônia e suas implicações na dinâmica de nitrogênio

Piracicaba
2013

ADELAINE MICHELA E SILVA FIGUEIRA

O cultivo da soja na região sudeste da Amazônia e suas implicações na dinâmica de nitrogênio

Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

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

Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio Martinelli

Piracicaba

2013

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

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

Figueira, Adelaine Michela e Silva
O cultivo da soja na região sudeste da Amazônia e suas implicações na dinâmica de nitrogênio / Adelaine Michela e Silva Figueira; orientador Luiz Antonio Martinelli. - - Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011 - - Piracicaba, 2013.
92 p.: il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Ciclos biogeoquímicos 2. Cronossequências 3. Fixação de nitrogênio 4. Florestas tropicais 5. Pastagens 6. Solo tropical I. Título

CDU 574.4 : 633.34 (811.3)

Dedico

À minha família, especialmente meus pais, Adelaide e Antonio Figueira pelo esforço em nos educar. Palavras ouvidas à vida inteira: “Meus filhos, estudem, pois não temos herança nenhuma pra deixar pra vocês... Por isso batalho todos os dias, pois só posso deixar pra vocês a educação”.

“Só”? Meu pai, isso é TUDO.

Ao meu **filhote** que, em um sorriso, me ensina o que realmente importa nessa vida.

À Deus a à nossa Mãezinha, por esse sorriso.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador da vida toda, Prof. Dr. Luiz Antonio Martinelli (Zebu), com quem aprendi muitas das grandes lições de minha vida (lições que ultrapassam as fronteiras da Ciência), pela inspiração como pesquisador e professor, e especialmente pelo humor que contagia.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pela bolsa de estudo e financiamento deste projeto (Processo 08/51343-7)

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio financeiro para execução deste projeto (Edital Universal 2007, Processo 477375/2007-3)

Eric Davidson (o ser mais eficiente que já conheci) pela orientação e apoio, pela paciência em sempre ensinar.

Jean Ometto, a quem agradecerei a vida toda por “abrir as trilhas”.

Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia (IPAM), pelo apoio logístico durante o período de coleta.

À cidade de Falmouth e a todos do WHRC (The Woods Hole Research Center) pela acolhida durante o período que estive nesse lugar de paisagens tão graciosas.

Ao Programa LBA por me abrir as portas da Ciência, especialmente Mary Menton, Scott Miller, Mike Goulden e Humberto Rocha pelas oportunidades que mudaram o rumo de minha vida.

Equipe do IPAM na Tanguro, especialmente “*Santarém”* e seu balador certeiro, Osvaldo Portela, Darlisson, Wanderley, Paul Lefebvre (pela ajuda com os mapas), Paulo Brando (pelas dicas, assistência técnica e trocas de ideias nas temporadas na Darro) e todos os outros pela agradável convivência.

À Fazenda Tanguro pela liberação das coletas nos campos de soja.

Mercedes Bustamante, pelo exemplo de mulher na Ciência.

Chris Neill, pelo apoio logístico e orientação nas coletas e extrações em campo.

Marisa Piccolo, pelo equipamento para análises de nitrato e amônio.

Grazi, Jennifer, Guilherme, Luiz Otavio, pela imensa ajuda no FIA. Eráclito, Fabiana e Simony pela forcinha com os solos.

Plinio Camargo, Marcelo Moreira, Tonica, Geraldo, Edmar, pelas análises isotópicas.

Fabiana Fracassi, apoio crucial pra seguir com o doutorado quando pensei em seguir outros rumos.

Amigos (presentes!) que ganhei em Pira: Lu Coletta (minha fornecedora oficial de artigos e orações), Tati, Bethe e Fernando (muita “força” na mudança pra Santarém), Natassia (imenso apoio na reta final), Luiz Felipe (muitas caronas ao som de “Evidências”), Urso (risada contagiante), Duzao (Durrr), Carlos Bedussschi, Gabriel Lui, Rafaela, Robson (pai do Igor) Alexandre, Anderson, Fernanda, Simony e família (vai tartaruguinha!), Wick, Janaina, Xanda, Uwe (*in memoriam*), obrigada a todos pelo carinho que ultrapassa nossas barreiras geográficas!

Maíra!!! Quase esqueço de você! (Brincadeirinha :))!

Eráclito Neto, sem palavras, meu best “maifriend” ever.

A galera do vôlei (pena que a idade e as ocupações não nos permitiram prosseguir).

Representando todos os queridos amigos que ganhei na ciência, obrigada Helber Freitas! O tempo passa, e sempre parece que foi ontem a última vez que gargalhamos juntos.

Gina Cardinot (“Mulherzinha”), pelo apoio no início deste projeto e pela amizade que vai além da ciência.

Casas onde gentilmente fui abrigada: Vania Neu (Belém) nos longos 10 dias de concurso, Tatiana Andrade (abrigo de mãe sempre), Urso (na longa temporada com mala cuia e Murilo), seu Célio (nos muitos anos no seu apartamento que eu nunca deixei de chamar de “minha casa”), Marcos Paulo (minha base em Goiânia), Parrish Warner (que no frio de Falmouth, me fez lembrar do aconchego de vó) , Bethe e Gordo (que abandonaram seu lar, só pra nos deixar à vontade) , Helber e Marcela (sempre um café quentinho pra receber a Família 3M)

Shelby Hayhoe (agora mamãe Shelby Riskin!), pelos muitos buracos cavados juntas e ajuda nas infinitas extrações, pelo apoio mútuo na solidão da Tanguro, pelas risadas (de pânico) nas fugas dos banhos pelo avião de pesticidas

Às amizades feitas e refeitas, às amizades perdidas pelo tempo e pelas circunstâncias...O importante é ter boas recordações sempre.

À meus novos colegas professores da UFOPA (Universidade Federal do Oeste do Pará), especialmente Rodrigo da Silva por sempre me lembrar que precisava terminar o doutorado.

À todos os meus alunos, especialmente Miyuki e Safira que seguem na vida acadêmica.

À Piracicaba, que eu adoro tanto! E aos motoristas do Panorâmica pela simpatia.

Eliete e Lourdes (Seção de Convênios), pela organização precisa de nossas contas.

Marília pela revisão da tese.

À Comissão de Pós-Graduação do CENA e a Pro-Reitoria de Pós-graduação pelo apoio financeiro para participação em conferências.

Adriana Martinelli pela flexibilidade na resolução das particularidades acadêmicas, Neuda Fernandes, pela eficiência indiscutível, e toda a equipe da secretaria por sempre nos ajudar. À Soninha pelo carinho e cuidado especial ao meu filhote.

José Mauro, mais uma vez e sempre, por ter o dom de ver estradas onde muitas vezes vejo o fim...Obrigada por ser meu porto seguro nas marés calmas e nas muitas turbulências que passamos e ainda passaremos juntos..

À UTI-Neonatal do HRBA, onde aprendi lições que o doutorado não ensina.

À Deus e à vida pelo meu maior título **“MÃE DO MURILO”!**

Nenhuma das cordas da vida dura, por isso vou andando, tudo passa...

(George Harrison)

Na terra do verde bravio,

o azul sinuoso passeia

É a mansa corrente de um rio

que eu trago correndo nas veias

Caminho de ondas serenas

Teu canto profundo nativo

Eu sei que tu és apenas

Rio Tapajós meu motivo!

Cancionata (José Wilson Malheiros-Otacílio Amaral)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS 9
LISTA DE TABELAS 11
RESUMO 12
ABSTRACT 13
1. INTRODUÇÃO 14
2 REVISÃO DE LITERATURA 20
2.1 Expansão do cultivo de soja na Amazônia: motivações e conseqüências ambientais, sociais e econômicas 20
2.2 Efeitos das mudanças no uso da terra nos ciclos biogeoquímicos: Ciclo de nitrogênio 25
2.3 Fixação biológica de nitrogênio - Mecanismos e balanços em sistemas agrícolas e florestais 26
3 MATERIAL E MÉTODOS 30
3.1 Área de estudo 30
3.2 Delimitação das áreas 32
3.3 Caracterização dos cultivos quanto ao manejo do solo e plantio de soja 33
3.4 Amostragem 36
3.5 Análises das amostras 38
3.6 Análises Estatísticas 43
4 RESULTADOS 45
4.1 Caracterização físico-química do solo 45
4.2 Concentração de N e composição isotópica ($\delta^{15}N$ e $\delta^{13}C$) do solo em floresta, pastagem e cronosequência de cultivos de soja 49
4.3 Estoques de N e C no solo de floresta, pastagem e cronosequência de cultivos de soja 54
4.4 Composição isotópica ($\delta^{15}N$ e $\delta^{13}C$) e concentração de N de plantas leguminosas e não-leguminosas nas áreas de floresta 60
4.5 Quantificação da proporção de nitrogênio via FBN e saídas de N via colheita de grãos 61

4.6 Concentração de nitrogênio na forma de nitrato ($N\text{-}NO_3^-$) e nitrogênio na forma de amônio ($N–NH_4^+$) em solo de floresta e cronosequência de cultivos de soja 63
4.7 Taxas de mineralização e nitrificação líquida em solo de floresta e cronosequência de cultivos de soja 68
5 DISCUSSÃO 71
5.1 Conversão floresta-pastagem 71
5.2 Modificações nas características físicas e químicas do solo ao longo dos cultivos 72
5.3 Contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN) em floresta e cultivos de soja na área de estudo. 74
5.4 Modificações na ciclagem de N ao longo do tempo de cultivo de soja 75
6 CONCLUSÃO 79
REFERÊNCIAS 80
APÊNDICE 89

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Conexões internacionais em fornecimento e demanda de produtos agropecuários 1992-2003. Adaptado de Naylor et al. (2005) (utilizando a base de dados da FAO) 21

Figura 2 - Série histórica de área plantada de soja de 1977 a 2010 no Brasil, e separadamente no Estado de Mato Grosso e na Região Norte. Fonte: CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento) 23

Figura 3 - Localização da área de estudo (Fazenda Tanguro) e mapa de uso do solo incluindo as áreas selecionadas para amostragem. Áreas claras em tons de rosa correspondem às áreas desmatadas para pastagem e posteriormente cultivos de soja; áreas em verde correspondem a florestas remanescentes. Os pontos em correspondem aos locais de amostragem. Pontos azuis: áreas com cultivos de soja há 6 anos; pontos em amarelo: áreas com cultivos de soja há 5 anos; pontos brancos: áreas com cultivos de soja há 2 anos, pontos pretos: áreas com cultivos de soja há 1 ano; pontos vermelhos: áreas de floresta 31

Figura 4 - Etapas da conversão pastagem-cultivos de soja. (A) área de pastagem original; (B) remoção da pastagem, seguida de aração e gradagem do solo; (C) área cultivada com soja (D) área de plantio direto pós-colheita 34

Figura 5 - Valores de concentração de N total (%) (média ± erro padrão) de solos superficiais (0 a 10 cm de profundidade) das áreas investigadas 49

Figura 6 - Médias (± erro-padrão) de (A) $\delta^{15}N$ (‰) e (B) $\delta^{13}C$ (‰) dos solos superficiais (0 a 10 cm de profundidade) coletados nas áreas investigadas 51

Figura 7 - Relação entre os valores médios (± erro-padrão) de $\delta^{15}N$ e $\delta^{13}C$ dos solos superficiais 52

Figura 8 - Valores médios de $\delta^{15}N$ (‰) no perfil do solo nas áreas investigadas 53

Figura 9 - Valores médios (± erro padrão) de $\delta^{13}C$ (‰) no perfil do solo (0 a 200 cm de profundidade) coletados nas áreas investigadas 54

Figura 10 - Estoque médio (± erro-padrão) de nitrogênio (A) e de carbono (B) na camada superficial do solo (0 a 10 cm) 56

Figura 11 - Estoque médio (± erro padrão) de N no perfil do solo (0 a 50cm de profundidade) nas áreas estudadas 59

Figura 12 - Estoque médio (± erro-padrão) de carbono no perfil do solo nas áreas estudadas 60

Figura 13 - Relação entre o $\delta^{15}N$ e concentração de N (média ± erro padrão) em espécies referência (não-fixadoras de N) e soja em cultivos recentes (1 ano) e antigos (6 anos) 62

Figura 14 - (A) Concentrações de nitrato ($N\text{-}NO_3^-$) e (B) amônio ($N\text{-}NH_4^+$) (média ± erro padrão) no solo (0 a 10cm) em floresta e cronosequência de cultivos de soja 64

Figura 15 - Razão $N\text{-}NO_3^-$/ $N\text{–}NH_4^+$ na camada de solo superficial (0 a 10cm) em floresta e nas áreas cultivadas com soja 65

Figura 16 - Médias (±erro-padrão) de concentração de $N\text{-}NO_3^-$ (A) e $N\text{–}NH_4^+$ (B) ao longo do perfil de solo nas áreas investigadas 66

Figura 17 - Concentração de nitrato ($N\text{-}NO_3^-$) no perfil do solo em trincheiras (0-5 metros de profundidade) em áreas de soja e floresta (média ± erro padrão, n=3 para cada tratamento) 67

Figura 18 - Taxas de mineralização e nitrificação líquida no solo (0 a 10cm de profundidade) em áreas de soja e floresta (média ± erro padrão) 68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Soja em números - Dados econômicos da safra 2010/2011. Fonte: EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária 24

Tabela 2 - Exportação do Complexo Soja em 2010 (grão, farelo, óleo) 25

Tabela 3 - Informações sobre a planta da soja nas áreas investigadas 35

Tabela 4 - Caracterização físico-química dos solos superficiais (0 a 20cm de profundidade) das áreas estudadas (média ± erro padrão) 47

Tabela 5 - Caracterização físico-química do perfil do solo (0 a 200cm de profundidade) das áreas estudadas (média ± desvio padrão) 48

Tabela 6 - Média (± erro-padrão) dos valores de $\delta^{15}N$, concentração de N e razão C/N da vegetação coletada na floresta na área de estudo agrupando-se as plantas em leguminosas e não leguminosas..... 61

Tabela 7 – Concentração média de nitrogênio (N) e biomassa nos diferentes compartimentos da cultura de soja em uma área cultivada com soja há 6 anos 63

Tabela 8 – Exportação anual de nitrogênio (NO_3^-; NH_4^+) para corpos d'água em microbacias. localizadas em floresta e cultivos de soja. As concentrações são apresentadas em kg N ha^{-1} ano^{-1}. Adaptado de Riskin (2012). 70

RESUMO

FIGUEIRA, A. M. e S. **O cultivo da soja na região sudeste da Amazônia e suas implicações na dinâmica de nitrogênio**. 2013. 92 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

A expansão agrícola tem provocado modificações expressivas na dinâmica de nitrogênio (N) em sistemas tropicais. No Brasil, a expansão dos cultivos de soja é uma realidade e, portanto, investigações a cerca dos processos que controlam o ciclo de nitrogênio nestes sistemas são fundamentais. A fixação biológica de nitrogênio (FBN) por leguminosas pode promover aportes significativos de N nos sistemas agrícolas em solos tropicais, no entanto, o destino destes aportes e o balanço entre entradas e saídas de N não é completamente entendido. Este trabalho teve como objetivo investigar comparativamente a dinâmica de nitrogênio em cultivos de soja e floresta no estado de Mato Grosso, sudeste da Amazônia. Foram determinados o $\delta^{15}N$ e %N do solo e da vegetação, estoques de N e C, $N–NO_3^-$, $N–NH_4^+$, bem como outras propriedades químicas e físicas do solo em áreas de floresta e em áreas submetidas a cultivos de soja ao longo de uma cronosequência (1, 2, 5 e 6 anos de cultivo). Foram realizadas estimativas de FBN (Fixação Biológica de Nitrogênio) em cultivos de soja utilizando a abundância natural de ^{15}N sob condições de campo. A conversão das áreas de cultivo partiu de pastagem, sendo esta área utilizada como referência inicial quanto aos estoques de N e ao $\delta^{15}N$ do solo. Foi observado um aumento significativo nos estoques de nitrogênio do solo (0 a 10cm) ao longo dos anos de cultivo de soja, estes no entanto, foram menores que os estoques encontrados na floresta. Os estoques de N no solo (0-10cm) variaram de 1230 kg N ha^{-1} na pastagem a 1370 kg N ha^{-1} nos cultivos mais antigos. O acúmulo anual de N pela soja foi de 158,6 kg N ha^{-1} nos cultivos mais antigos, do qual 79% foi derivado da FBN. Não foram encontradas diferenças significativas nas taxas de mineralização e nitrificação líquida entre as áreas, no entanto, altos valores de $N–NO_3^-$ foram encontrados nas camadas mais profundas de solo em cultivos de soja. Apesar de não serem observadas diferenças significativas no $\delta^{15}N$ do solo entre os cultivos, estes, no entanto, apresentaram valores de $\delta^{15}N$ intermediários entre a pastagem e a floresta. Os resultados indicaram um padrão de acúmulo de nitrogênio ao longo da cronosequência de cultivos de soja, indicando um possível retorno gradual dos estoques de N e do sinal isotópico do solo que ocorriam na floresta antes da conversão para pastagem e cultivo de soja, este retorno, no entanto, não parece acontecer a médio-prazo.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio. Soja. Floresta. Pastagem. Amazônia. Ciclo de nitrogênio.

ABSTRACT

FIGUEIRA, A. M. e S. Soybean cultivation in the southeast Amazon and its implications to the nitrogen dynamics . 2013. 92 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

Agricultural expansion has greatly changed the nitrogen (N) dynamics in tropical systems. The expanding soybean frontier in Brazil is a reality, and investigations of the processes driving N dynamics in these systems are needed to minimize environmental impacts and to promote the sustainability of agricultural systems. Biological nitrogen fixation (BNF) by legumes can provide significant N inputs to crop systems on highly weathered tropical soils, although the fate of these inputs in the environment and the balance between inputs and outputs of N in these systems is poorly understood. This work investigated N dynamics in a chronosequence of soybean fields (1, 2, 5 and 6 years of cultivation) and mature forest in the Brazilian state of Mato Grosso, which is at the southern limit of the Amazon forest. We measured soil N and C stocks, $N–NO_3^-$, $N–NH_4^+$ concentration and soil $\delta^{15}N$ as well as biological nitrogen fixation (BNF) inputs by soybean, which were assessed using the ^{15}N natural abundance technique under field conditions. Additional measurements of physical and chemical properties of soils were also provided. The land-use-conversion started from pasture, so this site was used as an initial reference for soil N stocks and soil $\delta^{15}N$. Mature forest stands on the ranch were also used as an additional reference. Soil N stocks (top 10cm) ranged from 1230 kg N ha^{-1} in the pasture to 1370 kg N ha^{-1} in the oldest soybean fields. The trend of increasing N stocks with field age was statistically significant. The annual N accumulation by soybean plant biomass was 158,6 kg N ha^{-1} in the oldest soy fields, of which 79% was estimated to be derived by BNF, based on the natural abundance technique. There was no statistically significant trend in the mineralization and nitrification rates among the areas. However, extracts of soil profiles showed significant increases in deep soil nitrate concentrations in soybean soils compared to forest soils. There was no statistically significant trend in the soil $\delta^{15}N$ within the chronosequence of soybean fields, although the values were intermediate between the soil $\delta^{15}N$ values found in the pasture and the forest. These results showed a pattern of nitrogen accumulation in the soil along the chronosequence of soybean fields, indicating a possible gradual return to soil N stocks and isotopic signatures occurring in the forest soil before the conversion to pasture and soybean, although this may not happen in the near future.

Key Words: Biological nitrogen fixation. Soybean. Forest. Pasture. Amazon. Nitrogen cycling.

1. INTRODUÇÃO

Atividades humanas de um modo geral têm provocado mudanças substanciais na superfície terrestre (KAREIVA et al., 2007), contribuindo para a alteração dos ciclos biogeoquímicos que desempenham um papel importante no equilíbrio e funcionamento dos ecossistemas em geral (STEFFEN et al., 2005). Neste contexto, a agricultura é um dos setores que mais tem se destacado, principalmente pelo aumento na demanda alimentícia de uma população em crescimento acentuado (KAREIVA et al., 2007). Na busca de atender a esta necessidade, a agricultura tem se intensificado, tanto no desenvolvimento de técnicas almejando um aumento na produtividade, como também em termos de área de cultivo, buscando a abertura de novas fronteiras agrícolas.

Apesar de não pertencer ao grupo de países com maior grau de desenvolvimento, no Brasil a intensificação e o aumento na fronteira agrícola caminham lado a lado. A busca por novas áreas agriculturáveis tem se intensificado e a pressão em direção aos dois maiores biomas brasileiros (Amazônia e Cerrado) já é, desde o começo da década de 70, uma realidade. O Cerrado, por exemplo, já possui cerca de 40% de sua área original convertida em cultivos agrícolas (MARQUELLI, 2003; SANO et al., 2010) e na última década esta expansão, principalmente do cultivo de grãos como a soja (*Glycine max* (L.) Merr.), atingiu a Amazônia (FEARNSIDE, 2001).

Apesar de ter o solo menos propício para o cultivo de soja, comparado a países como a Argentina e Estados Unidos, o Brasil se encontra hoje nos mesmos níveis de produtividade destes países, graças aos avanços nas pesquisas referentes à fixação biológica de nitrogênio (FBN) por bactérias associadas à soja (ALVES; BODDEY; URQUIAGA, 2003). A tecnologia utilizada pelos produtores tem gerado uma economia de 20% a 25% no processo, o que torna a soja brasileira extremamente competitiva no mercado mundial. Além deste fator, a produção de variedades de culturas localmente adaptadas e a recente expansão da área cultivada, têm proporcionado ao Brasil a posição de segundo maior produtor mundial deste grão (CONAB, 2012). Atualmente cerca de 24 milhões de hectares são

cultivados com soja no país, constituindo-se a maior *commodity* agrícola em termos de área (EMBRAPA, 2012).

A expansão agrícola na Amazônia reflete um processo recente de mudança de uso da terra que se potencializa por alguns fatores primordiais como a crescente demanda internacional por soja que, aliada aos baixos preços das terras e ao melhoramento na infra-estrutura de transporte, incitaram grandes companhias de soja a investir em armazenamento e instalações para processamento dos grãos na região (VERA-DIAZ et al., 2008). Como aconteceu no Cerrado, a expansão da soja nesta região tem sido direcionada principalmente por forças do mercado global, o que diferencia este processo de muitas alterações no uso do solo que vinham dominando o cenário nesta região até então (NAYLOR et al., 2005). Um dos agravantes e aceleradores deste processo é o recente aumento da demanda deste produto pela China. Este país, que há alguns anos era considerado um exportador de soja, nas últimas décadas vem se tornando um dos maiores importadores do produto. Este fato, conseqüentemente, incentivou a expansão do cultivo da soja no Brasil a fim de suprir as demandas do mercado internacional (NAYLOR et al., 2005; NEPSTAD; STICKLER; ALMEIDA, 2006).

Em virtude disso, o processo de expansão no cultivo de grãos na Amazônia, têm se dado de maneira muito rápida e, portanto, problemas ambientais, como a fragmentação da paisagem e desmatamento, tornam-se agravantes em curto prazo (FEARNSIDE, 2005). Neste cenário, o Estado de Mato Grosso, líder brasileiro na produção de soja, tem se destacado nas últimas décadas, sendo responsável por 31% da produção brasileira. Este estado, no período de 2001-2004, foi responsável por 87% do aumento na área cultivada por grãos na Amazônia, e por outro lado, também foi responsável por 40% do desmatamento na região durante este mesmo período (MORTON et al., 2006). Esta relação de expansão na produção de soja e desmatamento é, no entanto, ainda controversa, visto que o plantio de soja não é necessariamente realizado em áreas de floresta diretamente convertidas em áreas agrícolas. Mesmo assim, muitos autores conferem à soja a responsabilidade pelo aumento no desmatamento na região, seja pela conversão direta de floresta para cultivos de soja ou indireta, quando a soja ocupa as áreas antes utilizadas para pastagem deslocando o gado para outras regiões da fronteira e provocando

aumento nas taxas de desmatamento (ALENCAR et al., 2004; COHENCA, 2005; MORTON et al., 2006)

Ao mesmo tempo em que a expansão da soja representa um incentivo recente à fragmentação da paisagem com os decorrentes problemas ambientais, ela representa também um avanço no setor agropecuário. Dessa maneira, torna-se necessário o desenvolvimento de estratégias efetivas para conter ou minimizar os possíveis impactos ambientais do cultivo da soja e para isto a compreensão das modificações nos processos ecológicos envolvidos na transição soja–floresta é fundamental.

É conhecido que a substituição da vegetação nativa por cultivos agrícolas de um modo geral causa modificações expressivas nos ciclos de nutrientes (GALLOWAY, 1998; VITOUSEK et al., 1997). Os padrões de ciclagem destes elementos no sistema podem ser levemente ou completamente alterados em função de mudanças no uso e ocupação do solo (HÖLSCHER et al., 1997). Por exemplo, cultivos de leguminosas em geral têm duplicado a circulação de nitrogênio reativo (GALLOWAY et al., 2004), e muito tem sido discutido sobre as conseqüências do maior aporte deste elemento em ambientes naturais (VITOUSEK et al., 1997).

Nesse contexto, o ciclo de nitrogênio destaca-se, pois a escassez ou excesso deste nutriente pode comprometer a produtividade agrícola e o equilíbrio ambiental (GALLOWAY et al., 2004). Os aportes de nitrogênio em excesso, podem resultar, por exemplo, em significantes alterações nas propriedades físico-químicas dos corpos d’água, podendo interferir inclusive na qualidade da águas destes mananciais (BOYER et al., 2002). Por outro lado, a deficiência deste nutriente pode gerar sérios agravantes, pois o nitrogênio, assim como o fósforo, destaca-se como um dos principais limitantes da produtividade primária em ambientes terrestres e aquáticos (RABALAIS, 2002; VITOUSEK; HOWARTH, 1991).

Diferenças marcantes são observadas nos processos que regulam a dinâmica deste nutriente entre cultivos de soja e sistemas naturais como as florestas tropicais. Por exemplo, o aporte de nitrogênio através da FBN pela associação simbiótica dos cultivares de soja e *Bradyrhizobium japonicum* é significativamente maior na lavoura de soja que o estimado para a Floresta Ombrófila Densa da Amazônia (ALVES; BODDEY; URQUIAGA, 2003; ROGGY et al., 1999). Estudos mostram que a soja

pode obter mais de 80% do N acumulado na planta inteira através deste processo, principalmente quando cultivada em plantio direto (ALVES et al., 2006).

Apesar do significativo aporte de N pela FBN em cultivos de soja (ALVES; BODDEY; URQUIAGA, 2003), estudos referentes a balanços de massa na região sul do Brasil demonstram que nesta região o alto índice de colheita de N da cultura, normalmente equivale à proporção do N na planta derivado da FBN, constituindo-se em um balanço neutro de N no solo (ZOTARELLI, 2000). Na Amazônia, no entanto, por este ser um processo recente e pouco investigado, não se sabe ainda as conseqüências do avanço da soja sobre os processos que regem o ciclo do N na região. Apesar da maior entrada de nitrogênio na região ainda ser por FBN em florestas naturais (7,7 Tg N ano^{-1}) (CLEVELAND et al., 1999), as entradas por FBN e utilização de fertilizantes nitrogenados em cultivos agrícolas tem aumentado a cada ano (FILOSO et al., 2006).

A FBN em sistemas agrícolas, apesar de apresentar vantagens nos aspectos econômicos e ecológicos pelo fato de reduzir a utilização de fertilizantes nitrogenados, pode afetar a dinâmica do ciclo de nitrogênio na região. Esta interferência pode se dar através da entrada exógena de nitrogênio reativo, podendo intensificar os processos de mineralização e nitrificação, promovendo assim uma maior disponibilização de nitrogênio no solo, o que por sua vez potencializaria a emissão de gases nitrogenados ou a perda de N através de lixiviação. No caso da soja, isto pode se agravar, pois nestes cultivos a demanda por N é um processo pontual que se dá em apenas alguns meses do ano, permanecendo o solo sem cultivo por uma parcela significativa do ano o que potencializaria as perdas por lixiviação.

Dentro deste contexto algumas perguntas tornam-se extremamente pertinentes em relação a esta região, por exemplo: Quais as conseqüências deste modelo de mudança no uso da terra nos processos que determinam a dinâmica de N na região. Mais especificamente, qual o destino deste nitrogênio “extra” fixado pela soja? Como a dinâmica de nitrogênio no solo muda ao longo dos anos de cultivo de soja?

1.1 Objetivo

Este estudo tem como objetivo investigar comparativamente a dinâmica de nitrogênio em solos de áreas cultivadas com soja e em áreas cobertas com floresta estacional localizadas no norte do Estado do Mato Grosso, região sudeste da Amazônia.

1.2. Etapas do Estudo

As principais entradas de nitrogênio nos sistemas terrestres naturais são: (i) através do processo de fixação biológica de nitrogênio e (ii) através da deposição úmida e seca. As principais saídas dos sistemas terrestres naturais são: (i) através da volatilização de N que ocorre no solo e nas folhas das plantas e (ii) através do processo de denitrificação de N no solo, (iii) através de perdas por escoamento superficial e (iv) por percolação profunda.

Neste estudo foram estimados em áreas de floresta e cultivos de soja:

- Entradas de N via fixação biológica de nitrogênio, utilizando a abundância natural de ^{15}N em vegetação e solo (proporção de N via FBN) em cultivos de soja;
- Estoques de carbono (C) e nitrogênio (N) nos solos;
- Concentração de nitrogênio na forma de nitrato ($N–NO_3^-$) e de nitrogênio na forma de amônio ($N–NH_4^+$) nos solos;
- Saídas através do deflúvio (estudo paralelo na mesma área de abrangência deste estudo);
- Saídas de N via colheita de grãos;
- Adicionalmente, foram realizados estudos referentes à caracterização química e física dos solos da área.

1.3 Hipóteses

Os cultivos de soja promoverão um aporte adicional de nitrogênio via fixação biológica (FBN) ao sistema e este aporte será maior que o utilizado pela cultura para produção do grão, assim como por aquele perdido por emissões gasosas ou lixiviação, havendo, portanto, um ganho líquido de nitrogênio pelo sistema. Em termos comparativos, a floresta, diferentemente da soja, terá um aporte pouco expressivo de N pela FBN, porém a reciclagem deste elemento será maior e garantirá o suprimento deste no sistema.

Apesar destes aportes de nitrogênio via FBN, os estoques de nitrogênio e carbono no solo em área de floresta ainda serão mais elevados que nas áreas cultivadas com soja. Mesmo os cultivos de soja mais antigos não serão capazes de recuperar a grande quantidade de N e C perdida no sistema quando da conversão de floresta à pastagem (uso prévio do solo antes do estabelecimento do cultivo de soja).

Comparando-se a cronosequência de cultivos de soja, maiores estoques de N e C no solo e taxas mais elevadas de mineralização e nitrificação de N serão encontradas nos cultivos mais antigos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Expansão do cultivo de soja na Amazônia: motivações e conseqüências ambientais, sociais e econômicas

Desde a década de 70, quando os primeiros grandes projetos se instalavam na Amazônia e ao longo de toda sua história, o povoamento e desenvolvimento desta região, advêm de tentativas humanas de colonização e de estabelecimento de modelos econômicos a fim de preencher o quase vazio populacional que se estabelecia na região nesse período (BECKER, 2005).

Entre os vários ciclos econômicos, vivenciados pela região destaca-se a coleta e o cultivo do cacau, a borracha, a corrida pelo ouro, juta, madeira, e mais recentemente, a partir dos meados da década de 70, a expansão da pecuária. Na década de 90 a expansão no cultivo de soja se destaca no cenário de transformação da paisagem Amazônica, tanto no contexto econômico como ambiental.

A expansão da soja na Amazônia se iniciou no final dos anos 90 com o desenvolvimento de novas variedades tolerantes à umidade e ao clima quente desta região (FEARNSIDE, 2001) e foi incentivada, entre outros fatores, pelo aumento do preço da soja devido à escassez mundial de proteína para ração animal (HARD, 2002).

A soja tem suas origens no continente asiático e foi primeiramente introduzida no Brasil no Rio Grande do Sul na década de 70. Somente a partir da década de 80 com o desenvolvimento de tecnologias específicas para adaptação desta cultura em solo e clima brasileiros e o desenvolvimento de uma nova variedade deste grão, iniciou-se a expansão desta cultura para outras regiões do Brasil, como as regiões de Cerrado (SPEHAR, 1995).

Aproximadamente 75% da produção brasileira de soja é exportada, totalizando aproximadamente 10% do total de exportação do país, sendo a China e a União Européia os principais compradores (CONAB, 2012).

A China se destaca como um dos maiores importadores deste produto principalmente devido à mudança do padrão alimentar, promovendo uma maior demanda pelo consumo de carne neste país o que, consequentemente, incitou também a demanda pela soja para produção de ração para alimentar o rebanho

nacional. A estreita relação entre o aumento do consumo de carne animal na China e o aumento na produção e exportação brasileira de soja para este país é demonstrada por Naylor et al. (2005) (Figura 1) e vem ocorrendo nos últimos 20 anos.

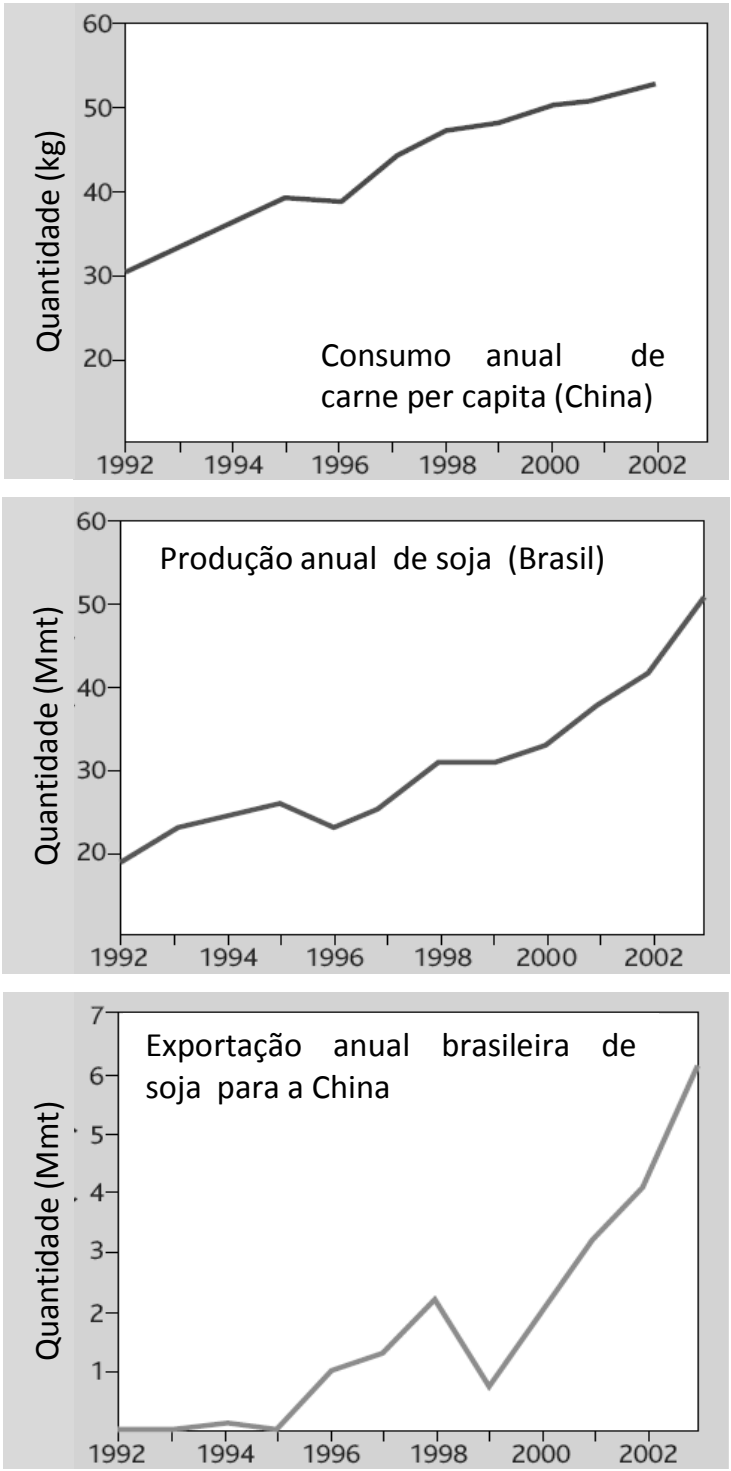


Figura 1 - Conexões internacionais em fornecimento e demanda de produtos agropecuários 1992-2003. Adaptado de Naylor et al. (2005) (utilizando a base de dados da FAO)

Esta crescente demanda internacional por soja e aumento nas exportações brasileiras, principalmente para a China, promoveu uma busca por áreas cultiváveis no Brasil, deslocando assim, os cultivos agrícolas para o norte do Brasil (NEPSTAD; STICKLER; ALMEIDA, 2006). Além destes fatores, os baixos preços das terras e o melhoramento na infraestrutura de transporte no sudeste da Amazônia, incitaram grandes companhias de soja a investir em armazenamento e instalações para processamento dos grãos na região (VERA-DIAZ et al., 2008).

Apesar da grande área de cultivo de soja observadas no país desde a década de 70, não havia registros expressivos de cultivos de soja na região Amazônica até a década de 80 (Figura 2). Esta expansão só foi observada a partir da década de 90, quando grandes áreas de cultivos foram observada nesta região e no Estado de Mato Grosso, corroborando a dinâmica observada por Naylor et al. (2005) (Figura 1). No Estado de Mato Grosso especificamente, os cultivos a princípio se concentravam em sua maioria em regiões previamente cobertas pelo Cerrado, e a partir do final da década de 90 esta expansão atingiu o norte do Estado de Mato Grosso, sudeste da Amazônia Legal (COHENCA, 2005).

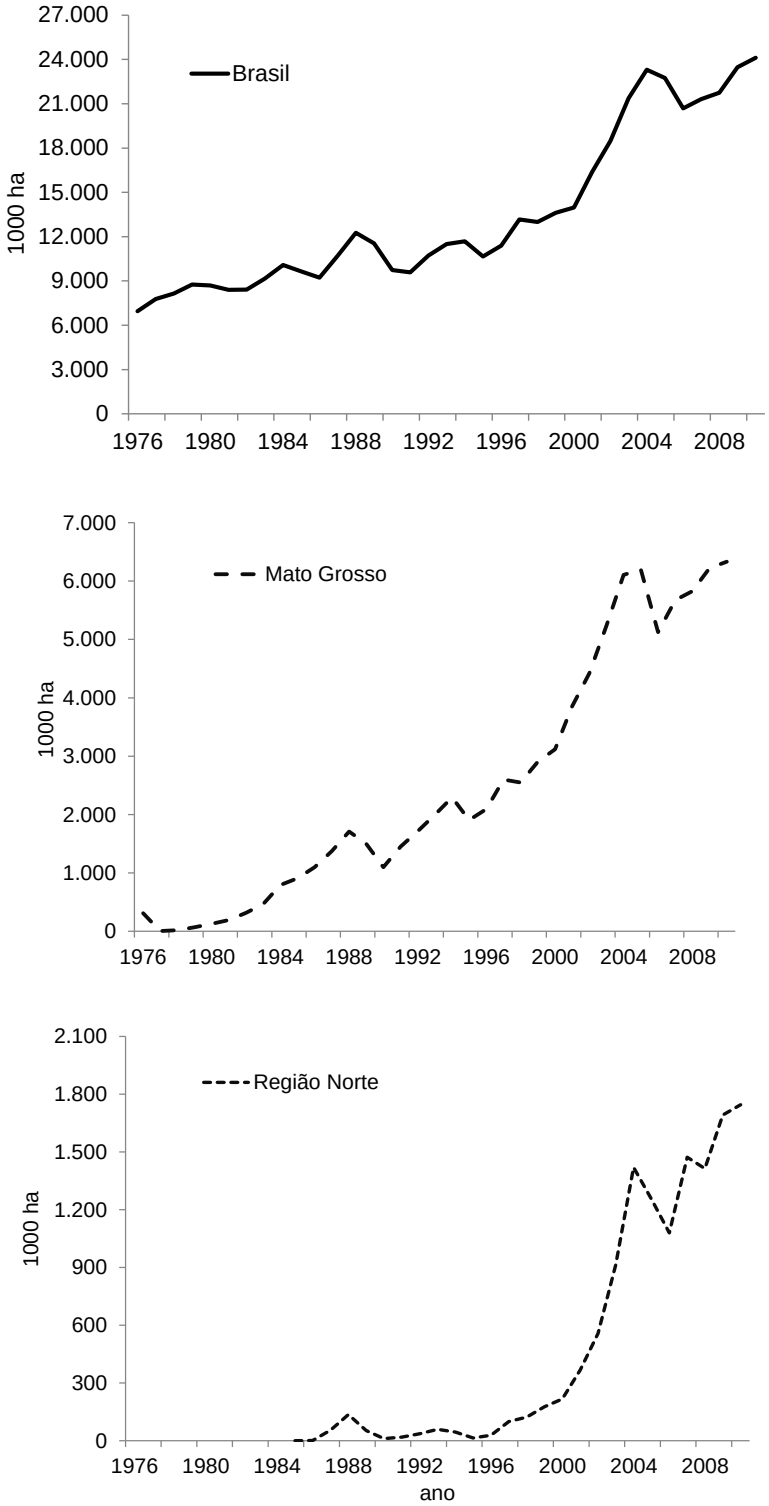


Figura 2 - Série histórica de área plantada de soja de 1977 a 2010 no Brasil, e separadamente no Estado de Mato Grosso e na Região Norte. Fonte: CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento)

O recente aumento na produção brasileira de soja (EMBRAPA, 2012) (Tabela 1) e a consequente expansão destes cultivos têm, no entanto, gerado preocupação entre a comunidade ambientalista, levantando muitas polêmicas sobre a sustentabilidade e as conseqüências desta expansão agrícola na região Amazônica. Alguns autores, por exemplo, relataram a influência da soja nas altas taxas de desmatamento na região, seja por conversão direta dos ambientes tropicais naturais da Amazônia em plantios de soja (Morton et al., 2006) ou indireta, onde os cultivos de soja em áreas previamente utilizadas para a pecuária deslocaram este rebanho para outras áreas incitando o desmatamento em outras regiões da Amazônia (ALENCAR et al., 2004; COHENCA, 2005)

Tabela 1 - Soja em números - Dados econômicos da safra 2010/2011. Fonte: EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

	Produção (milhões de toneladas)	Área plantada (milhões de ha)	Produtividade (kg ha^{-1})
	Safra 2010/2011		
Soja no mundo	263,7	103,5	-
Soja na América do Sul	135,7	47,5	-
Soja nos EUA[1]	90,6	31,0	2.922
Soja no Brasil[2]	75,0	24,2	3.106
Soja no Mato[3] Grosso	20,4	6,4	3.190

[1] Maior produtor mundial do grão;
[2] Segundo maior produtor mundial do grão;
[3] Estado maior produtor brasileiro de soja.

Por outro lado, o avanço dos cultivos de soja no país, especialmente no sudeste da região Amazônica tem colocado este produto em destaque nas exportações brasileiras. Conforme dados recentes da CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento), a soja, computando-se todos os seus sub-produtos como farelo e óleo, tem gerado, para o país, um montante de aproximadamente 17 bilhões de dólares em exportações (Tabela 2).

Tabela 2 - Exportação do Complexo Soja em 2010 (grão, farelo, óleo). Fonte: CONAB, 2011

Produto exportado	Produção	Valor
Grão	29,1 milhões t	US$ 11,0 bilhões
Exportação de farelo	13,7 milhões t	US$ 4,7 bilhões
Exportação de óleo	1,6 milhões t	US$ 1,4 bilhões
Total		US$ 17,1 bilhões

No cenário agrícola nacional, o Estado de Mato Grosso é o líder na produção de soja e carne, sendo responsável por 31% da produção brasileira de soja e 13% das cabeças de gado do país.

De 2000 a 2005 este estado foi responsável por 40% do desmatamento observado na Amazônia (MORTON et al., 2006), estas taxas no entanto, têm diminuído nos últimos anos (MACEDO et al., 2012). Esta diminuição por ser relacionada às flutuações do mercado global, com a desvalorização do dólar por exemplo, como também à implementação de políticas de monitoramento e controle de desmatamento (MACEDO et al., 2012).

Dentro deste contexto, a implantação da moratória da soja se destacou como uma das tentativas de implantar critérios socioambientais para a produção agrícola na Amazônia. Essa moratória consistiu na suspensão especialmente por empresas internacionais, da compra de grãos provenientes de áreas desmatadas recentemente. Esse compromisso foi anunciado em 24 de Julho de 2006 e, notícias recentes, mostram que o resultado está sendo positivo, no entanto os critérios de fiscalização ainda se mostram pouco efetivos, mesmo nos dias atuais.

2.2 Efeitos das mudanças no uso da terra nos ciclos biogeoquímicos: Ciclo de nitrogênio

Quando ocorrem mudanças na estrutura dos ecossistemas terrestres há de um modo geral, modificações na ciclagem de N, e principalmente perdas deste elemento no sistema (HUNGATE et al., 2003; VITOUSEK et al., 1979). Em geral, a conversão de florestas em áreas agriculturáveis, correspondem à grandes perdas de

N, principalmente devido ao processo de limpeza da área, que geralmente envolve queima, promovendo perdas principalmente por volatilização de N. Matson et al. (1987), por exemplo, apontam perdas na ordem de 1000 kg N ha^{-1} após corte e queima de floresta tropical.

Na Amazônia, estudos prévios têm demonstrado haver grandes perdas tanto de biomassa como de nutrientes durante a conversão de floresta à cultivo agrícola (FEARNSIDE, 2000; KAUFFMAN et al., 1995).

Smaling et al. (2008) apontam perdas de N em cultivos de soja na ordem de 182 milhões de kg N ano^{-1}, estas perdas, no entanto, estariam reduzidas nos últimos anos chegando a inclusive a haver um balanço positivo de N nos cultivos (na ordem de 62 milhões de kg ano^{-1}), ganho este atribuído à melhora das práticas agrícolas e à fixação biológica de nitrogênio.

O cultivo de leguminosas tem duplicado a entrada de nitrogênio reativo no sistema, devido a processos como a FBN (GALLOWAY et al., 2004). Estudos apontam que cultivos de soja, após o segundo ano, já representam ¼ das perdas em forma de NO_3^-, via lixiviação (OELMANN et al., 2007).

2.3 Fixação biológica de nitrogênio - Mecanismos e balanços em sistemas agrícolas e florestais

A Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) por bactérias associadas à soja (DÖBEREINER, 1966) tem sido a grande responsável pelo destaque mundial do Brasil na produção e exportação da soja. A tecnologia utilizada pelos produtores em grande escala consiste na utilização, para o plantio, de sementes inoculadas com estas bactérias, e esta prática tem gerado uma economia de 20% a 25% no processo, devido principalmente à redução dos custos referentes a fertilizantes nitrogenados, o que torna a soja brasileira extremamente competitiva no mercado mundial.

O processo ocorre de maneira relativamente simples. A entrada de N no sistema através da fixação biológica (FBN), processo mediado por uma parcela relativamente pequena das espécies de procariotos que possuem a enzima nitrogenase, capaz de reduzir o N_2 em N biologicamente disponível. A maioria da

fixação biológica de N envolve as formas de simbioses microorganismo:planta vascular, com a formação de nódulos radiculares, que são estruturas nas raízes habitadas por microorganismos específicos, como as bactérias do gênero Rhizobium e Bradyrhizobium e os actinomicetos do gênero Frankia, que fixam o N_2 atmosférico. Nessa relação, o microrganismo (rizóbio) usa a planta como fonte de carbono, enquanto libera o nitrogênio fixado que será convertido em N orgânico e utilizado pela planta ou liberado como N inorgânico reduzido (NH_4^+). Esse N reativo, definido como o N ligado ao C, O ou H (ex: NO_y, NH_x, N orgânico) e que é disponível aos organismos, entra nos processos do ciclo de N circulando entre as plantas, animais, microrganismos, solo, soluções e sedimentos (VITOUSEK et al., 2002).

Após a síntese dos produtos nitrogenados nos nódulos, estes são transportados para a parte aérea da planta via xilema, pelo fluxo da transpiração. No caso da soja, o N sintetizado é transportado principalmente na forma de N-ureídeo (alantoína e ácido alantóico) (ATKINS et al., 1992; SPRENT; THOMAS, 1984). A eficiência do processo de fixação de N é altamente dependente do genótipo da planta (WILSON, 1940), e está relacionada com a capacidade fotossintética, balanço hormonal, atividade das enzimas responsáveis pela assimilação do nitrogênio, entre outros fatores (HARDY; HAVELKA, 1976; HUNGRIA; NEVES, 1987).

Em termos agrícolas, a relação simbiótica mais importante é com bactérias pertencentes à espécie *Bradyrhizobium japonicum*. Graças ao programa de seleção e melhoramento da soja no Brasil, que levou em consideração a capacidade de a planta fixar N_2, a recomendação atual para o cultivo da soja é a da utilização de inoculante sem a suplementação com fertilizante nitrogenado. Calcula-se com o uso dessa técnica uma economia para o país de cerca de 1 bilhão de dólares por ano (ALVES; BODDEY; URQUIAGA, 2003; DÖBEREINER, 1997; HUNGRIA et al., 2002).

Em termos de balanços de N nos sistemas agrícolas, Alves et al. (2006) em pesquisa no Centro-Oeste do país, demonstraram que fixação biológica de N na cultura da soja, com inoculação de rizóbio e sob plantio direto, proporciona alta produtividade de grãos e balanço positivo de N para o sistema. Estes autores relatam quantidades de N na cultura da soja derivadas da FBN variando em torno de 176 e 193 kg ha^{-1} de nitrogênio.

Já na floresta, principalmente as florestas tropicais, onde a circulação de N é alta, a FBN por ter um alto gasto energético, é suprimida quando a disponibilidade

de N no solo é suficiente (CHALK et al., 2010), dessa forma, as taxas de FBN das leguminosas na floresta são bem reduzidas. Nestes sistemas, a capacidade de nodulação (e formação de simbiose com rizóbios) é taxonomicamente definida e depende da evolução de ambos, das leguminosas e dos rizóbios: 90% das Papilionoideae, 76% das Mimosoideae e 30% das Caesalpinoideae investigadas até agora na Amazônia tem capacidade nodulífera comprovada (SOUZA; SILVA; MOREIRA, 1994).

Roggy et al. (1999) estimaram que o nitrogênio derivado da FBN está em torno de 6-8kg N ha^{-1} em uma floresta primária na Guiana Francesa. Da mesma forma, Högberg e Alexander (1995) detectaram insignificantes ou ausentes taxas de FBN em todas as florestas primárias de Camarões e leste da Amazônia respectivamente. Gehring et al. (2005) em estudos baseados na composição de espécies de leguminosas, impacto destas na fitomassa total e abundância natural de ^{15}N na serapilheira, também encontraram baixa ou ausente FBN em florestas primárias da Amazônia.

Os métodos mais comumente utilizados para estimativas de FBN são (1) Balanços de N baseados na diferença no nitrogênio total entre uma leguminosa e uma planta referência (não fixadora), método este restrito a uso em condições controladas (2) Diluição isotópica de N, onde se utiliza tanto a técnica do fertilizante marcado com ^{15}N (FRIED; DANSO; ZAPATA, 1983) como através da abundância natural de ^{15}N (SHEARER; KOHL, 1986). Estas duas técnicas podem ser utilizadas no campo durante o ciclo produtivo da soja, no entanto, há uma grande discussão no uso destas técnicas, especialmente a utilização de fertilizante marcado com ^{15}N. Entre os problemas atribuídos a esta técnica estão, por exemplo, as diferenças sazonais nos padrões de acúmulo de N entre leguminosas e espécies não fixadoras (referência) em condições de campo, bem como diferenças na distribuição de raízes que podem promover estimativas imprecisas de fixação de N (DANSO; HARDARSON; ZAPATA, 1993).

Estimativas de FBN também podem ser obtidas através de medidas de mudanças na concentração de ureídeos no fluxo de seiva do xilema (HERRIDGE; BERGERSEN; PEOPLES, 1990; HERRIDGE; PEOPLES, 1990), esta técnica, no entanto, é limitada a leguminosas produtoras de ureídeos e medidas de fixação refletem apenas um período limitado de tempo. Outra técnica, que pode ser ainda utilizada para comparações ou medidas pontuais de FBN, é a da redução do acetileno para etileno (HARDY et al., 1968; MAGUE; BURRIS, 2006; PETERSON; BURRIS, 1976).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

A área de estudo situa-se na fazenda Tanguro (13.04°S, 52.23°W), município de Canarana, Mato Grosso, no sudeste da Amazônia Brasileira. A área da fazenda (uma propriedade de aproximadamente 82.000 ha) é caracterizada por áreas de pastagens, cultivo de soja e floresta (Figura 3). Até o ano de 2002 a maior parte da área era utilizada com pastagens, mas nos últimos anos estas áreas foram convertidas em cultivos de soja. Dos 38.000 ha desmatados da propriedade, a maioria é destinada ao cultivo de grãos, especialmente a soja.

A fazenda situa-se na área de tensão ecológica entre a floresta ombrófila aberta e a savana (IBGE, 1993). A vegetação natural da fazenda (44.000 ha) é classificada segundo Ivanauskas et al. (2008) como Floresta Estacional Perenifólia. Esta formação vegetal é caracterizada por estatura relativamente baixa (altura da copa em torno de 10 a 22m), índice de área foliar máximo em torno de 5, baixa diversidade de espécies e um alto nível de dominância (10 espécies representam 60% do índice de valor de importância). A família botânica *Lauraceae* domina estas áreas (BALCH et al., 2008; IVANAUSKAS; MONTEIRO; RODRIGUES, 2004).

Os solos nesta região são predominantemente LATOSSOLOS VERMELHO-AMARELO distrófico. A precipitação anual é em média 1800 ±170 mm, com estação seca severa geralmente de maio a outubro (± 80mm durante os cinco meses da estação). A temperatura média do ar varia em torno de 24 a 27°C.

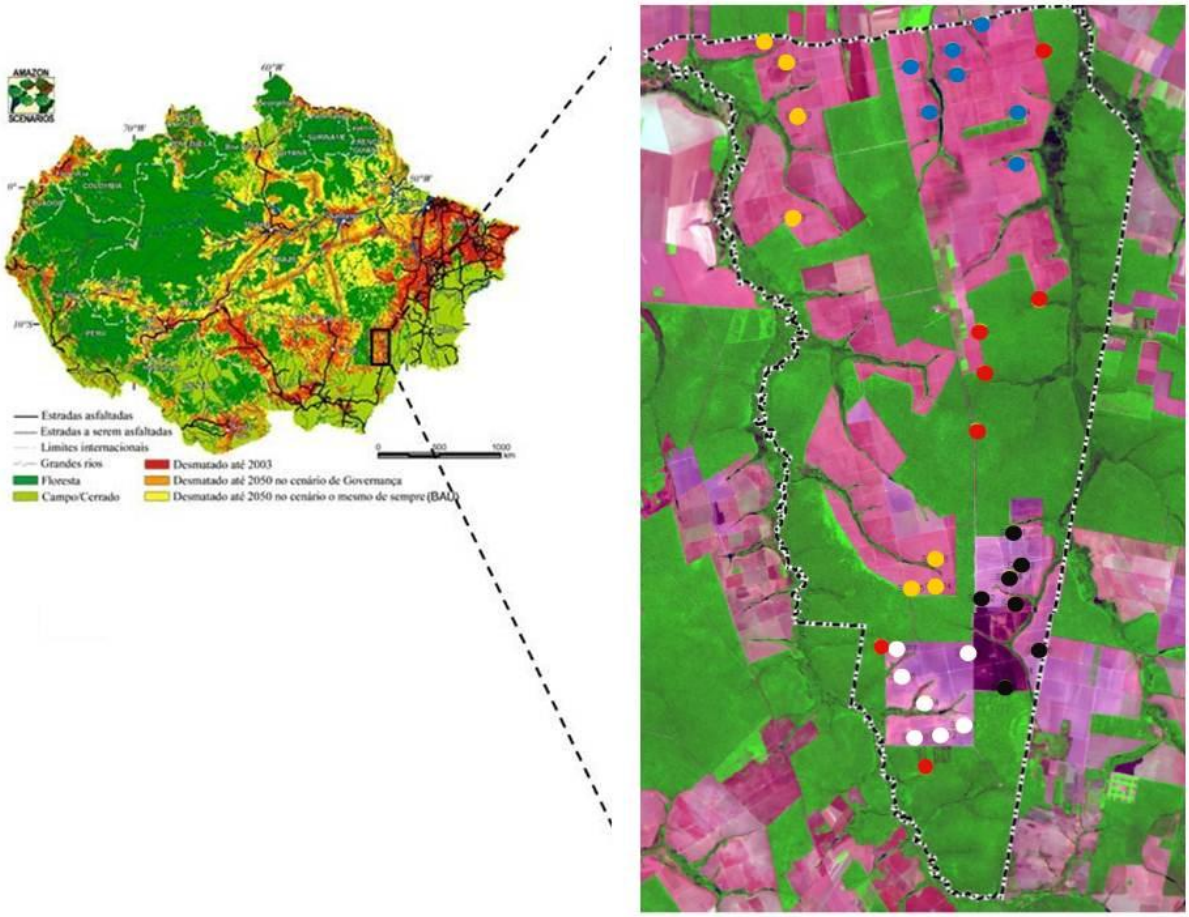


Figura 3 - Localização da área de estudo (Fazenda Tanguro) e mapa de uso do solo incluindo as áreas selecionadas para amostragem. Áreas claras em tons de rosa correspondem às áreas desmatadas para pastagem e posteriormente cultivos de soja; áreas em verde correspondem a florestas remanescentes. Os pontos correspondem aos locais de amostragem. Pontos azuis: áreas com cultivos de soja há 6 anos; pontos em amarelo: áreas com cultivos de soja há 5 anos; pontos brancos: áreas com cultivos de soja há 2 anos, pontos pretos: áreas com cultivos de soja há 1 ano; pontos vermelhos: áreas de floresta

3.2 Delimitação das áreas

Foram selecionadas cinco áreas de amostragens que receberam a seguinte denominação ao longo do texto:

- ***floresta*:** áreas constituídas por extensos fragmentos de florestas maduras, caracterizadas como Floresta Estacional Perenifólia (IVANAUSKAS; MONTEIRO; RODRIGUES, 2008), sem registro de uso anterior.
- ***pastagem***: área destinada à criação de gado (convertida a cultivo de soja em 2009). Esta área representa o ponto de partida da conversão, pois de acordo com entrevistas realizadas na área de estudo, todos os cultivos foram estabelecidos em áreas previamente utilizadas como pastagem, e estas por sua vez foram estabelecidas em substituição à floresta há aproximadamente 20 anos *(comunicação pessoal, gerência Fazenda Tanguro).*
- ***cronosequência em áreas de cultivos de soja***: áreas constituídas por plantios de soja com diferentes tempos de cultivo, ou seja, áreas cuja conversão para a cultura da soja iniciou-se em diferentes períodos. Destaca-se que em todos os casos a conversão se deu de floresta à pastagem e posteriormente ao cultivo de soja.

- 6 anos: áreas onde o cultivo de soja se iniciou em 2003
- 5 anos: áreas onde o cultivo se iniciou em 2004
- 2 anos: áreas onde o cultivo se iniciou em 2007
- 1 ano: áreas onde o cultivo se iniciou em 2008

As áreas de amostragem ao longo da cronosequência de cultivos e floresta foram determinadas por sorteio e se distribuíram ao longo da área da fazenda a fim de se cobrir a maior variabilidade espacial possível em termos de propriedades químicas e físicas dos solos.

Ressalta-se que nos cultivos de soja mais recentes (1 e 2 anos) foram adotadas práticas de plantio convencional e nos mais antigos (5-6 anos) foi adotada a técnica de plantio direto. Dessa forma, os resultados foram agrupados respeitando-se à cronosequência propriamente dita e referindo-se ao tipo de manejo do solo durante o cultivo. Assim, estas áreas serão descritas em gráficos e tabelas como:

"***Soja 1-2 anos*"** (cultivos recentes, realizados em plantio convencional) e **"*Soja 5-6 anos*"** (cultivos antigos, que utilizam técnicas de plantio direto).

As coletas nos cultivos de soja e floresta foram realizadas no período entre 26 de janeiro de 2009 a 20 de fevereiro de 2009. A coleta na área de pastagem foi realizada previamente, em agosto de 2008, durante o processo de conversão para cultivo de soja, da última área remanescente de pastagem na fazenda. Esta coleta foi realizada em caráter exploratório e se constituiu apenas de solo superficial (0-10cm de profundidade). Mesmo assim, os resultados desta coleta foram incluídos no escopo deste trabalho como referência ao ponto de partida da conversão.

3.3 Caracterização dos cultivos quanto ao manejo do solo e plantio de soja

O manejo do solo na fazenda é diversificado, mas de um modo geral a dinâmica do plantio se caracteriza por plantio convencional nos primeiros dois anos de cultivo e plantio direto a partir do terceiro ano de cultivo.

Na conversão das pastagens para cultivo de grãos, geralmente é realizada limpeza da área com maquinário pesado, sendo árvores e vegetação remanescente, removidas e posteriormente queimadas. O solo é então arado e recebe aplicação de calcário (aproximadamente 1500 kg ha^{-1}). Além disso, KCl (cloreto de potássio) e P (fosfato, super fosfato simples e super fosfato triplo) são aplicados anualmente nas seguintes doses 80 kg ha^{-1} ano^{-1} de K e 50 kg ha^{-1} ano^{-1} de P. Este procedimento se repete nos primeiros 3 anos de cultivo (Figura 4A-B). Não há registro de aplicação de N nos solos antes do estabelecimento do cultivo.

A partir do terceiro ano, o solo não é arado durante o processo de aplicação de insumos, sendo então adotadas práticas de plantio direto (SCHEFFLER et al., 2011). Durante a estação seca não há cultivo, ficando os solos em sua maioria expostos durante este período (Figura 4D).

(A)

(B)

(C)

(D)

Figura 4 - Etapas da conversão pastagem-cultivos de soja. (A) área de pastagem original; (B) remoção da pastagem, seguida de aração e gradagem do solo; (C) área cultivada com soja (D) área de plantio direto pós-colheita

As variedades de soja utilizadas na maioria dos cultivos no período referente a este estudo (safra 2008/2009) foram Tabarana e Msoy-8866. Em alguns talhões foram utilizadas as variedades Msoy-9010, Msoy-8914, Emgopa-313 e P98C81 (Tabela 3). A escolha das variedades, bem como das áreas para plantio destas, variam a cada safra. O plantio na fazenda Tanguro iniciou-se em novembro de 2008 e terminou em janeiro de 2009 e a colheita se deu entre os meses de março e abril de 2009. Os grãos são colhidos por volta de 120 dias após o plantio e a produtividade nos cultivos mais antigos foi em torno de 60 sacas ha^{-1} ou cerca de 3600 kg ha^{-1} (Tabela 3).

Tabela 3 - Informações sobre a planta da soja nas áreas investigadas

Áreas:	Variedade de soja plantada	Plantas/ m^2	Plantio	Colheita	Ciclo (dias)	Produtividade (kg ha^{-1})
1 ano	Msoy-8866 Emgopa-313		22/11/2008 a 09/01/2009	*	120	*
2 anos	Msoy-8866 Msoy-8914	12,9	12/12/2008 a 28/12/2008	13/04/2009 a 24/04/2009	117	2460
5 anos	Msoy-8866 Msoy-8914 Tabarana, Msoy-9010	12,9	07/11/2008 a 14/12/2008	08/03/2009 a 19/04/2009	121	3600
6 anos	Tabarana, Msoy-8866, Msoy-8914	11,7	15/11/2008 a 22/11/2008	14/03/2009 a 28/03/2009	125	3720

*Os dados de produtividade para as respectivas áreas não foram fornecidos pela gerência da fazenda até a publicação deste manuscrito.

3.4 Amostragem

a) *Folhas e grãos*

Foi selecionada uma área de floresta (um hectare), distante cerca de 100 m das plantações, onde foram coletadas folhas verdes, maduras (totalmente expandidas) e sadias de espécies fixadoras de nitrogênio (leguminosas noduladoras e/ou fixadoras potenciais) presentes nos fragmentos florestais e não-leguminosas (espécies não fixadoras de N). A amostragem foi baseada em levantamentos fitossociológicos (inventários) previamente realizados na área de floresta selecionada (BALCH et al., 2008). A escolha das espécies arbóreas levou em conta o IVI (Índice de Valor de Importância), calculado a partir da densidade, abundância e freqüência relativa da família ou da espécie quando identificada (CURTIS; MCINTOSH, 1950). Para as leguminosas, foram coletadas todas as espécies detectadas no inventário da área, perfazendo um total de três indivíduos pertencentes a uma mesma espécie, com capacidade de nodulação comprovada (SOUZA; SILVA; MOREIRA, 1994). Foram amostrados 36 indivíduos, entre espécies de leguminosas e não-leguminosas (ver Apêndice 1). As coletas foram realizadas com a utilização de podão e/ou estilingue (em árvores mais altas), em diferentes galhos da copa dos indivíduos. Depois de coletadas, folhas verdes completamente expandidas foram selecionadas, formando uma amostra composta de cerca de 100 a 200g de folhas por indivíduo.

Entre os cultivos de soja estudados foram selecionadas duas áreas para coleta de material foliar, uma área recém-convertida (1 ano) e uma área no cultivo mais antigo (6 anos). A área de cultivo de 1 ano foi selecionada, pois para utilização da metodologia isotópica para estimativas de FBN da soja, parte-se do pressuposto que haja diferenças significativas entre o $\delta^{15}N$ do solo e o da atmosfera (próximo de 0‰), o que possivelmente aconteceria nestas áreas, já que a cultura é recente, portanto sem tempo suficiente para influenciar o $\delta^{15}N$ do solo. Por outro lado, em um cultivo mais antigo, a soja já estaria adaptada e, portanto com condições de realizar a FBN de maneira mais eficiente. Dessa forma, como medida comparativa, a

estimativa de FBN também foi realizada na área de cultivo de soja mais antigo (6 anos).

Na área recém-convertida (1 ano) e no cultivo mais antigo (6 anos), foram coletadas, no início da floração, folhas verdes (completamente expandidas), maduras e sadias de cinco indivíduos de soja e cinco de espécies espontâneas (espécies preferencialmente não-fixadoras; que crescem independentemente na mesma área do plantio de soja, sob as mesmas condições, referidas neste estudo como “testemunhas”). Foram coletados 4-5 ramos em cada planta de soja e 4-5 folhas maduras em cada testemunha, dependendo do porte da planta. Não foi realizada identificação científica das testemunhas, mas pela avaliação das características morfológicas em campo concluiu-se não se tratar de leguminosas.

A massa total (matéria seca) acumulada pela parte aérea da planta (soja) e a biomassa de raízes foi estimada pela amostragem de três parcelas de 3 m^2 de área no cultivo de soja no período de floração. Em cada parcela, foram coletadas todas as plantas presentes na área incluindo as raízes agregadas ao caule. As plantas foram separadas em raízes, ramos e folhas/flores sendo acondicionadas em sacos de papel e posteriormente secas em estufa. As parcelas foram instaladas na área de cultivo de 2 anos e foram consideradas como padrão para as estimativas de %N derivado da FBN independente da idade de cultivo. Partindo do pressuposto que a biomassa não varia significativamente entre os cultivos de soja, a área de 2 anos foi selecionada para esta amostragem devido à facilidade de acesso.

Na área de cultivo de 6 anos, foram identificados talhões de plantio de soja em desenvolvimento mais avançado (formação da semente), onde foram coletadas amostras de grãos de cinco plantas de soja para determinação da concentração de N no grão.

b) Solos

Foram definidos por sorteio sete pontos em cada idade de cultivo de soja (Figura 3) e sete pontos nas áreas de floresta, buscando abranger a possível variabilidade espacial da região.

Em cada ponto foi coletado, com um trado holandês, amostras de solo até uma profundidade de 2 m, onde foram coletadas amostras de solo dos seguintes intervalos de profundidade: 0 a 10, 10 a 20, 40 a 50, 90 a 100 e 190 a 200 cm de profundidade. Na área de pastagem, conforme descrito no item 3.2, foram coletados somente amostras no intervalo de profundidade 0 a 10 cm de solo.

Em cada um dos locais selecionados para coleta de solo, foi aberta uma trincheira, com dimensões aproximadas de 80 x 80 cm de largura e 60 cm de profundidade, na qual foram coletadas amostras com cilindro volumétrico de 115 cm^3 para determinação da densidade aparente do solo e utilização desta nos cálculos dos estoques dos nutrientes no solo. As amostras foram coletadas em uma das paredes da trincheira, no centro das camadas 0 a 10 cm, 10 a 20 cm e 40 a 50 cm.

Adicionalmente, foram realizadas coletas de solo em trincheiras (5 metros de profundidade) localizadas em áreas de cultivo de soja e floresta. Foram amostradas três trincheiras em soja e três em floresta. As trincheiras fazem parte de um projeto, realizado na mesma região por outro grupo de pesquisa e foram abertas em Agosto de 2007. Nestas áreas foram amostradas as profundidades: 0 a 10, 10 a 20, 40 a 50, 90 a 100, 190 a 200, 290 a 300, 390 a 400, 490 a 500 cm para determinação das concentrações de nitrato e amônio nas respectivas camadas. As coletas foram realizadas na parede da trincheira, a aproximadamente 30 cm de distância da borda, utilizando um trado holandês. As trincheiras no cultivo de soja estão localizadas em áreas aonde o plantio de soja vem sendo realizado há 5 anos. As coletas foram realizadas em fevereiro de 2009.

3.5 Análises das amostras

a) *Preparo das amostras*

O material vegetal foi seco em estufa equipada com circulação forçada a 60° C por 72 h e posteriormente moído. As amostras de solo foram previamente secas

ao ar, destorroadas em peneira de 2 mm para remoção de pedras, raízes e resto da serapilheira. Sub-amostras de solo foram obtidas através do “quarteador” de Jones, onde aproximadamente 200 g foram reservados para a caracterização física e química dos solos, e aproximadamente 10 g foram trituradas para análises isotópicas. Para a determinação das concentrações de nitrato e amônio, bem como das taxas de mineralização e nitrificação líquida, a remoção de pedras, raízes e resto da serapilheira foi realizada no campo, no mesmo dia da coleta, em amostras de solo ainda úmido.

b) Análise físico-química de solo

A determinação das características físico-químicas das amostras de solo coletadas em floresta e na cronosequência de cultivo de soja foram realizadas pelo departamento de Solos e Nutrição de plantas da ESALQ/USP de acordo com os procedimentos usados pela EMBRAPA (1999).

***c)* Concentração de nitrogênio na forma de nitrato ($N–NO_3^-$) e de nitrogênio na forma de amônio ($N–NH_4^+$)**

As medidas de concentração de nitrogênio na forma de nitrato, aqui simbolizado por $N–NO_3^-$ e de nitrogênio na forma de amônio, aqui simbolizado por $N–NH_4^+$, e posteriormente das taxas líquidas de mineralização e nitrificação de N do solo, foram realizadas utilizando-se amostras de solo coletadas nas áreas de floresta, cronosequência de cultivos de soja (ao longo do perfil do solo até 200 cm de profundidade), bem como nas trincheiras até 5 m de profundidade em área de floresta e cultivo de soja (perfil do solo até 500 cm de profundidade). As coletas foram realizadas em janeiro/fevereiro de 2009 (estação chuvosa), e buscaram abranger o ciclo produtivo da soja. Não foram realizadas, portanto, coletas na estação seca devido a ausência de cultivos nas áreas.

No campo, nas amostras de solo ainda úmido foram retiradas restos de folhas, raízes e pedras. Em um intervalo de tempo de 2 horas a, no máximo, 7 horas,

uma sub-amostra de 10 a 11 g de solo úmido foi retirada e a esta foi adicionado 50 mL de KCl 2M para extração do N nas formas inorgânicas. Após 24 horas, estes extratos foram filtrados, acondicionados em frascos e preservados com PMA (fenil acetato de mercúrio) a uma concentração de 0,5 mg L^{-1} de amostra. As amostras foram congeladas e transportadas ao laboratório. Uma segunda sub-amostra de aproximadamente 15 g foi seca a 105°C para a determinação do teor de umidade do solo pelo método gravimétrico. O restante da amostra foi incubada no escuro a temperatura ambiente (entre 25 e 28°C) por sete dias para determinar a taxa de mineralização e nitrificação líquidas. Após esse período, foram adicionados a uma sub-amostra de 10 a 11 g, 50 mL de KCl 2M. Após 24 horas, estes extratos foram filtrados, acondicionados em frascos e preservados. O restante da amostra foi incubada no escuro à temperatura ambiente (entre 25 e 28°C) por 7 dias para determinar a taxa de mineralização líquida de N e nitrificação. Após 7 dias, uma sub-amostra de aproximadamente 10 a 11 g foi extraída com KCl 2M por 24 horas, filtrada e preservada.

As concentrações de $N–NH_4^+$ nos extratos foram analisadas em condutivímetro acoplado ao sistema FIA (fluxo de injeção contínua) e as concentrações de $N–NO_3^-$ foram analisadas em espectrofotômetro acoplado ao FIA (comprimento de onda 534 nm).

Os resultados foram expressos baseados na massa de solo seco (PS) a 105°C. A quantidade de N disponível entre 0 a 10cm de profundidade e no perfil do solo, corresponde à concentração de N inorgânico nas amostras nos tempos iniciais de incubação (tempo zero).

As taxas de nitrificação líquida foram calculadas como a concentração final de $N–NO_3^-$ menos a concentração inicial de $N–NO_3^-$, dentro de cada período de incubação, e as taxas de mineralização líquida de N, foram calculadas como a concentração final de $N–NO_3^-$ + $N–NH_4^+$ menos a concentração inicial de $N–NO_3^-$ + $N–NH_4^+$, dentro de cada período de incubação. Esta metodologia é baseada em Piccolo et al. (1994).

d) Determinação da razão isotópica do carbono e nitrogênio estáveis e determinação das concentrações de carbono e nitrogênio em amostras de folhas e de solos

Para determinação da composição isotópica do carbono e do nitrogênio estáveis, bem como das concentrações totais de cada elemento, foram pesadas em cápsula de estanho sub-amostras contendo 1 a 2 mg do material foliar, 10 a 20mg de solo nas camadas superficiais (0 a 10cm) e 30 a 40mg nas camadas mais profundas (10-50cm). Estas foram introduzidas em um analisador elementar (Carlo Erba EA 1110 CHNS, CE Instruments) para determinação da concentração de C e N através da combustão das amostras. O gás proveniente da combustão é carreado em um fluxo de hélio por uma coluna cromatográfica e introduzido diretamente em um espectrômetro de massas para razões isotópicas (Delta Plus, ThermoQuest-Finnigan). A abundância natural de ^{15}N é expressa como desvios por mil (‰) em relação a um padrão primário através da seguinte equação:

$$\delta^{15}N = \left(\frac{R_{amostra} - R_{padrão}}{R_{padrão}} \right) \times 1000 \qquad \text{(Equação 1)}$$

onde:

R é a razão $^{15}N/^{14}N$.

O $\delta^{15}N$ é calculado em relação ao padrão, que é o ar atmosférico ($R_{padrão}$ = 0,0036765).

A abundância natural do ^{13}C é expressa como desvio por mil (‰) em relação à um padrão primário através da seguinte equação:

$$\delta^{13}C = \left(\frac{R_{amostra} - R_{padrão}}{R_{padrão}} \right) \times 1000 \qquad \text{(Equação 2)}$$

onde:

R amostra é a razão isotópica $^{13}C/^{12}C$ da amostra e o R padrão é a razão isotópica $^{13}C/^{12}C$ do padrão.

O padrão internacionalmente utilizado é o PDB ($R_{padrão}$ = 0,0112372), como padrão interno de trabalho foi utilizada atropina para o material foliar e o padrão nº

502-308 da LECO Corporation para amostras de solo. A margem de erro aceitável para C, N, ^{13}C ^{15}N é de 0,15%, 0,01%, 0,30‰ e 0,50‰, respectivamente. As análises foram realizadas no Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura).

e) Determinação dos estoques de carbono e nitrogênio nos solos

O cálculo dos estoques de carbono e nitrogênio foi feito segundo a equação abaixo:

$$E' = [n] \times D \times E \,, \qquad \text{(Equação 3)}$$

onde:

E' = estoque na camada;

[n] = é a concentração ou porcentagem do elemento na camada;

D = densidade aparente da camada (g cm^{-3});

E = espessura da camada (cm);

A determinação da densidade aparente foi realizada pelo método do cilindro volumétrico (EMBRAPA, 1979), utilizando cilindros de aço inox de volume conhecido (115 cm^3). As amostras de solo foram retiradas do cilindro, acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa a 105^0 C por 48 horas e/ou até atingir peso constante.

Para comparação dos estoques de C e N, entre os diferentes usos da terra, foram realizadas correções de massa de solo conforme Murty et al., 2002.

f) Quantificação da proporção de nitrogênio via FBN

A contribuição da FBN foi quantificada para a cultura da soja, pela técnica de diluição isotópica de ^{15}N, baseada na abundância natural desse isótopo. Essa

técnica tem por princípio que o N disponível no solo é enriquecido em ^{15}N, em função do fracionamento isotópico associado aos processos físicos, químicos e biológicos envolvidos na transformação do N da matéria orgânica (SHEARER; KOHL, 1986). Assim, uma planta não fixadora de N crescendo na mesma área de uma planta fixadora, terá um sinal isotópico dos tecidos ($\delta^{15}N$) próximo ao sinal do N disponível do solo. Já o sinal isotópico da planta fixadora de N (neste caso, a soja) será próximo do sinal da atmosfera (0-2‰), pois durante o processo de fixação biológica o fracionamento é nulo ou próximo de zero (HOGBERG, 1997).

Além das amostras da parte aérea das plantas de soja, espécies espontâneas (espécies não-fixadoras que crescem independentemente na mesma área do plantio de soja, referidas neste estudo como “testemunhas”), foram também coletadas das mesmas parcelas para serem utilizadas como referência da abundância natural de ^{15}N do N disponível no solo (Ver item 3.4).

A porcentagem de N derivada da FBN na planta (%FBN) foi calculada pela fórmula:

$$\%FBN = [(\delta^{15}Nt - \delta^{15}Ns)/ \delta^{15}Nt - B)]100, \qquad \text{(Equação 4)}$$

onde:

$\delta^{15}Nt$ e $\delta^{15}Ns$ correspondem aos valores de abundância natural de ^{15}N das plantas testemunha e da soja, respectivamente;

B é uma constante relacionada ao processo de discriminação isotópica de ^{15}N pelo processo da FBN (BERGERSEN; PEOPLES; TURNER, 1988), sendo considerada neste estudo como B=-1‰ (ALVES et al., 2006).

A quantidade total de N na planta derivada da FBN foi calculada pela multiplicação da %FBN pelo total de N acumulado pela planta.

3.6 Análises Estatísticas

A normalidade dos dados foi testada utilizando os testes de Kolmogorov–Smirnov e Shapiro Wilk. Os dados referentes à porcentagem de areia, N–NO_3^-, N–

NH_4^+, CTC, pH (H_2O), pH (KCl) não seguiram distribuição normal, sendo, dessa forma, realizadas transformações logarítmicas atingir a normalidade dos dados .

As médias foram comparadas utilizando-se análises de variância (ANOVA) seguidas de teste post hoc Tukey. Diferenças foram consideradas significativas quando a probabilidade foi igual ou menor que 5%. Todas as análises estatísticas foram conduzidas utilizando-se o software Statistica versão 11.

Diferenças na densidade do solo entre as áreas foram testadas utilizando-se análises de co-variância (ANCOVA), incluindo-se a textura do solo como co-variável na análise.

Da mesma forma, partindo do princípio que a densidade e textura do solo podem influenciar os estoques de C e N, diferenças entre os diferentes usos da terra e idade de cultivo foram testadas utilizando-se análises de co-variância (ANCOVA), sendo densidade e textura incluídas na análise como co-variáveis.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização físico-química do solo

Os solos das áreas estudadas apresentaram textura variável, possuindo áreas constituídas desde textura muito arenosa (>70% de areia) à textura médio-argilosa (50% de argila). Em média não houve diferenças entre as idades de cultivo, nem entre estas e a floresta (Tabela 4). A densidade aparente do solo foi mais elevada nos cultivos de soja quando comparados à floresta ($p<0,05$). Os cultivos mais recentes (Soja 1-2 anos), por sua vez, apresentaram densidade mais elevada que os mais antigos (Soja 5-6 anos) ($p<0,05$).

Foram observadas diferenças relevantes nas principais características químicas dos solos no intervalo entre 0 a 20 cm em função da cobertura do solo (floresta *versus* cultivos) e da idade dos cultivos (Tabela 4). Entre estas características, observou-se, por exemplo, que o pH dos solos cultivados, independente do tempo de cultivo, são menos ácidos que o pH da floresta ($p<0,05$).

Houve um aumento na matéria orgânica do solo ao longo das idades de cultivo ($p<0,05$, Tabela 5). Mesmo assim, estes valores ainda são menores que os encontrados na floresta ($p<0,05$). Vale ressaltar que o teor de carbono nos cultivos mais antigos é de aproximadamente 75% do encontrado na floresta (Tabela 4)

A soma de bases trocáveis (SB) e a saturação de bases (V) foram significativamente mais elevadas na Soja 5-6 anos em comparação à Soja 1-2 anos ($p<0,05$), e ambas foram mais elevadas que a floresta ($p<0,05$). A capacidade de troca catiônica (CTC) apresentou um aumento significativo ao longo da cronosequência de cultivos de soja e a floresta ($p<0,05$). A razão C/N do solo, por sua vez, não apresentou diferenças entre os cultivos, nem entre estes e a floresta (Tabela 4).

Ao longo do perfil do solo algumas características químicas foram modificadas. Devido ao número reduzido de análises nas amostras em profundidade, testes estatísticos, no entanto, não foram aplicados. Entretanto,

alguns padrões podem ser observados. Verificou-se, por exemplo, uma inversão nas cargas do solo, somente na camada 90 a 100 cm no cultivo recente (Soja 1-2 anos), onde observou-se, pelo delta pH, cargas positivas nesta profundidade (Tabela 5).

Tabela 4 - Caracterização físico-química dos solos superficiais (0 a 20cm de profundidade) das áreas estudadas (média ± erro padrão)

Área	areia (%)	argila (%)	pH (H_2O)	pH (KCl)	P (mg kg^{-1})	SB[1] (mmolc kg^{-1})	CTC[2] (mmolc kg^{-1})	V[3] (%)	Densidade (g cm^{-3})	N%	C%	C/N
Pastagem*	53,0 (±3,1)	45,3 (±2,6)							1,3*	0,09 (±0,01)	1,56 (±0,17)	16,56 (±0,53)
Soja (1-2 anos)	61,8 (±3,5)	36,2 (±3,5)	5,7 (±0,15)	4,9 (±0,14)	32,11 (±12,8)	24,94 (±3,55)	53,1 (±3,56)	45,32 (±5,51)	1,45 (±0,03)	0,09 (±0,01)	1,43 (±0,13)	16,23 (±0,25)
Soja (5-6 anos)	54,9 (±3,0)	43,0 (±2,9)	6,0 (±0.08)	5,1 (±0,07)	20,07 (±6,17)	34,57 (±2,71)	61,1 (±2,67)	54,36 (±3,03)	1,36 (±0,02)	0,10 (±0,01)	1,56 (±0,09)	15,50 (±0,13)
Floresta	59,2 (±3,8)	38,2 (±3,9)	4,5 (±0,20)	3,9 (±0,20)	5,86 (±1,01)	4,61 (±1,79)	70,2 (±5,62)	11,07 (±6,84)	1,08 (±0,03)	0,14 (±0,02)	2,12 (±0,21)	15,32 (±0,46)

[1] SB = soma de bases trocáveis (Ca^{2+} + Mg^{2+} + K^{+} + Na^{+})

[2] CTC = SB+H+Al

[3] V=SB x 100 / CTC

* Área convertida a cultivo de soja no ano anterior ao início das coletas. Devido ao número reduzido de amostras, somente análises granulométricas, análises isotópicas e de concentração de C e N estão disponíveis neste estudo, e somente na camada 0-10 cm. A densidade do solo da pastagem foi estimada através de levantamento bibliográfico a cerca dos valores encontrados em pastagens na Amazônia (NEILL et al., 1997)

Tabela 5 - Caracterização físico-química do perfil do solo (0 a 200cm de profundidade) das áreas estudadas (média ± desvio padrão)

Profundidade (cm)	Área	n	pH (KCl)	pH (H2O)	delta pH	P (mg kg^{-1})	Al^{3+} (mmol kg^{-1})	M (%)	V (%)
10	Floresta	7	3,84 (±0,21)	4,53 (±0,22)	-0,69	8,43 (±1,7)	16,9 (±3,0)	74,0 (±12)	12,6 (±8,9)
20	Floresta	7	3,96 (±0,09)	4,54 (±0,20)	-0,58	3,29 (±0,68)	11,3 (±1,9)	71,4 (±11)	9,57 (±4,8)
50	Floresta	8	4,10 (±0,10)	4,78 (±0,17)	-0,68	2,12 (±0,35)	7,38 (±1,0)	66,8 (±9,3)	13,8 (±5,8)
100	Floresta	2	4,20 (±0,0)	4,80 (±0,10)	-0,60	1,00 (±0,0)	4,00 (±0,0)	50,0 (±6,0)	17,5 (±5,5)
200	Floresta	2	4,50 (±0,10)	4,80 (±0,20)	-0,30	1,50 (±0,50)	1,50 (±0,50)	26,5 (±12,5)	16,5 (±9,5)
10	Soja 1-2 anos	13	5,13 (±0,19)	5,98 (±0,16)	-0,85	60,4 (±28)	1,23 (±0,51)	6,31 (±3,1)	59,3 (±6,6)
20	Soja 1-2 anos	14	4,73 (±0,16)	5,54 (±0,18)	-0,81	7,36 (±1,8)	2,86 (±0,84)	21,7 (±7,5)	33,9 (±5,6)
50	Soja 1-2 anos	13	4,22 (±0,05)	4,72 (±0,09)	-0,5	2,15 (±0,37)	4,85 (±0,90)	59,8 (±4,5)	9,69 (±0,89)
100	Soja 1-2 anos	3	4,87 (±0,27)	4,43 (±0,03)	0,44	1,67 (±0,33)	4,00 (±2,0)	53,7 (±13,5)	16,0 (±3,8)
200	Soja 1-2 anos	4	4,58 (±0,14)	4,90 (±0,18)	-0,32	1,75 (±0,25)	1,50 (±0,87)	29,3 (±14)	15,5 (±4,1)
10	Soja 5-6 anos	14	5,31 (±0,07)	6,15 (±0,07)	-0,84	27 (±11)	0,07 (±0,07)	0,21 (±0,21)	63,5 (±2,8)
20	Soja 5-6 anos	14	4,86 (±0,13)	5,81 (±0,11)	-0,95	13,1 (±4,8)	1,36 (±0,48)	8,43 (±3,6)	45,2 (±4,3)
50	Soja 5-6 anos	14	4,39 (±0,10)	5,24 (±0,13)	-0,85	1,86 (±0,31)	3,57 (±0,57)	39,1 (±6,6)	17,9 (±3,4)
100	Soja 5-6 anos	6	5,03 (±0,09)	5,42 (±0,13)	-0,39	1,50 (±0,22)	0,17 (±0,17)	1,67 (±1,67)	20,7 (±5,8)
200	Soja 5-6 anos	6	5,33 (±0,13)	5,57 (±0,15)	-0,24	1,33 (±0,21)	0,17 (±0,17)	1,67 (±1,67)	25,2 (±5,0)

4.2 Concentração de N e composição isotópica ($\delta^{15}N$ e $\delta^{13}C$) do solo em floresta, pastagem e cronosequência de cultivos de soja

Os valores médios de concentração de N nos solos da pastagem, cronosequência de soja e floresta variaram entre 0,08 a 0,19% e aumentaram com o tempo de cultivo de soja (Figura 5). Os cultivos mais recentes (Soja 1-2 anos) e mais antigos (Soja 5-6 anos) não diferiram da pastagem, mas todas as áreas tiveram concentração de N no solo menor que a encontrada na floresta ($p<0,05$). Comparando-se os cultivos antigos e recentes especificamente, a concentração de N foi mais elevada nos solos dos cultivos mais antigos (Soja 5-6 anos) ($p<0,05$) (Figura 5).

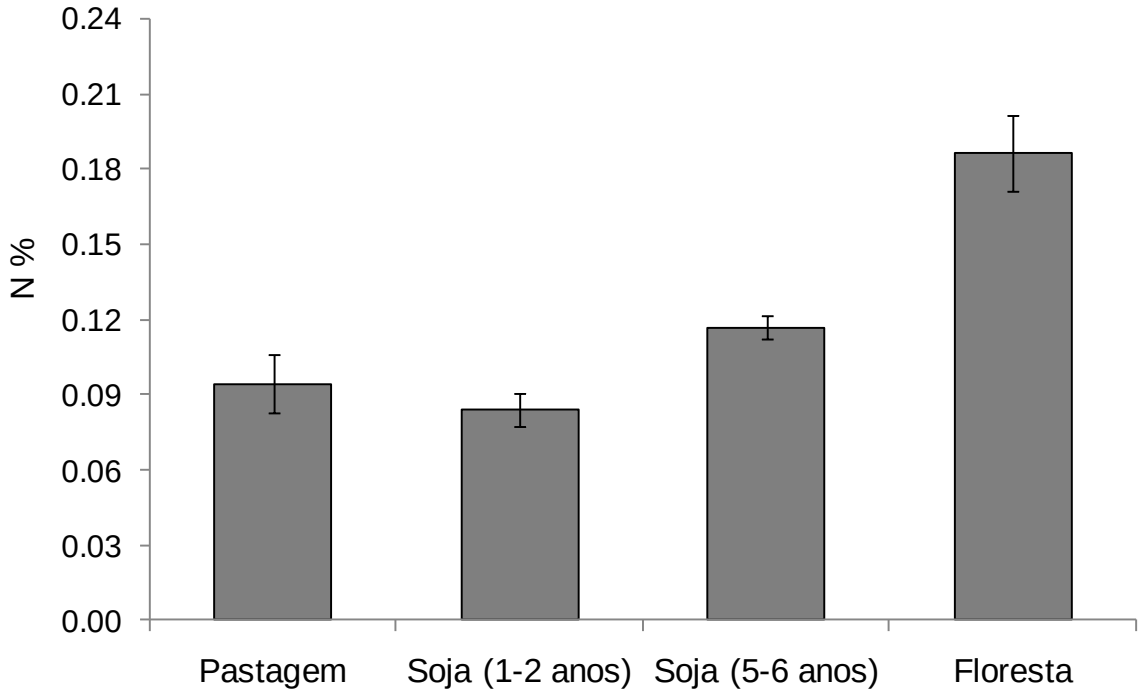


Figura 5 - Valores de concentração de N total (%) (média ± erro padrão) de solos superficiais (0 a 10 cm de profundidade) das áreas investigadas

Em relação aos valores de $\delta^{15}N$ nas camadas superficiais do solo, estes variaram de 4,2 a 7,6 ‰ (Figura 6A). O $\delta^{15}N$ dos solos da floresta foi menor que o da pastagem e o dos cultivos ($p<0,05$). Não foram observadas diferenças significativas entre o $\delta^{15}N$ dos solos dos cultivos recentes (Soja 1-2 anos) e dos cultivos antigos (Soja 5-6 anos). Comparando-se os solos cultivados, agrupando-se as idades, com os solos da floresta e da pastagem, observa-se que os primeiros têm valores de $\delta^{15}N$ intermediários, ou seja, menores que os encontrados na pastagem e mais elevados que os encontrados na floresta ($p<0,05$) (Figura 6A).

Os valores de $\delta^{13}C$ do solo na camada superficial (0 a 10cm) variaram de -29,9 a -19,9 ‰ e um padrão decrescente foi observado ao longo da cronosequência (Figura 6B). Os valores de $\delta^{13}C$ do solo foram maiores na pastagem em comparação ao cultivo mais antigo (Soja 5-6 anos) e à floresta ($p<0,05$) e não diferiram dos cultivos mais recentes (Soja 1-2 anos). Os valores de $\delta^{13}C$ do solo dos cultivos não diferiram entre si, mas foram mais elevados que o dos solos da floresta ($p<0,05$) (Figura 6B).

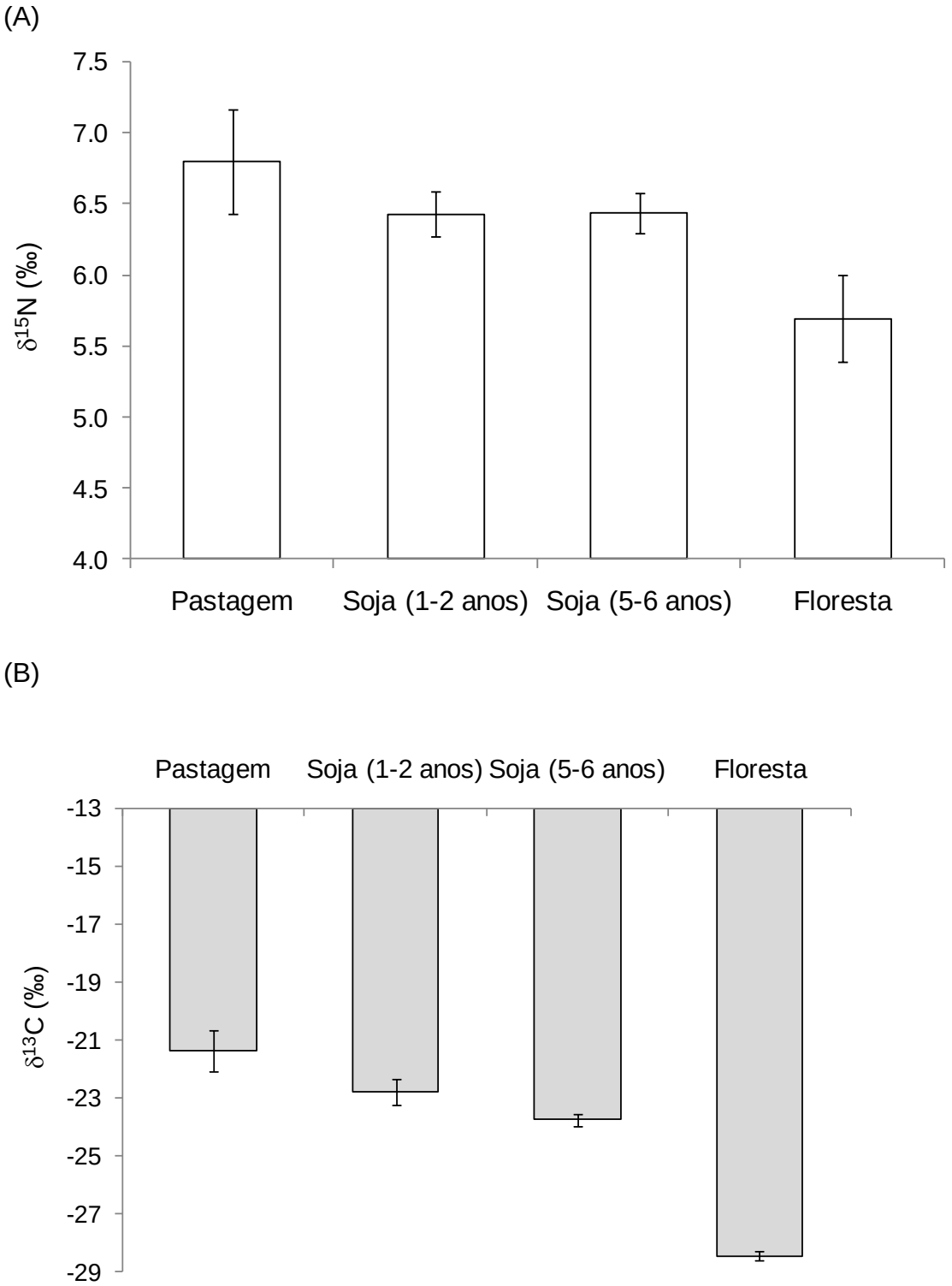


Figura 6 - Médias (± erro-padrão) de (A) $\delta^{15}N$ (‰) e (B) $\delta^{13}C$ (‰) dos solos superficiais (0 a 10 cm de profundidade) coletados nas áreas investigadas

Uma correlação negativa foi observada entre o $\delta^{15}N$ e o $\delta^{13}C$ na camada superficial do solo (Figura 7). Os valores de $\delta^{13}C$, que eram maiores na pastagem, refletindo o sinal da vegetação C_4 (gramínea), ficam mais negativos e cada vez mais próximos dos valores de $\delta^{13}C$ encontrados nos solos da floresta, ao mesmo tempo em que ocorre a diminuição do $\delta^{15}N$ no solo (Figura 7).

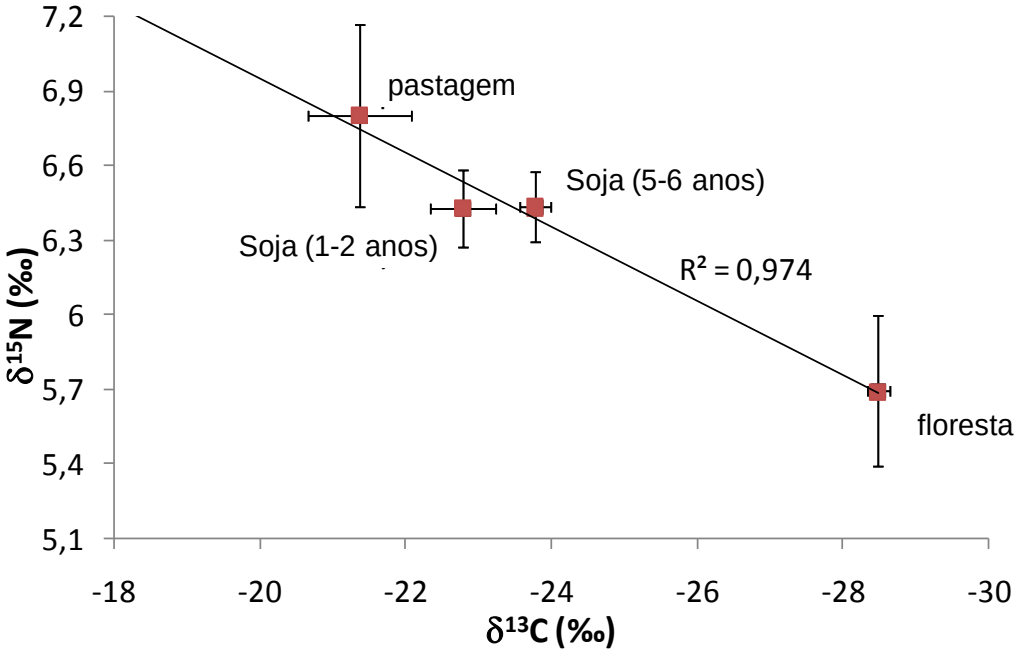


Figura 7 - Relação entre os valores médios (± erro-padrão) de $\delta^{15}N$ e $\delta^{13}C$ dos solos superficiais

Nos perfis de solo, um progressivo enriquecimento em ^{15}N (~4‰) em profundidade foi observado em todas as áreas investigadas (Figura 8).

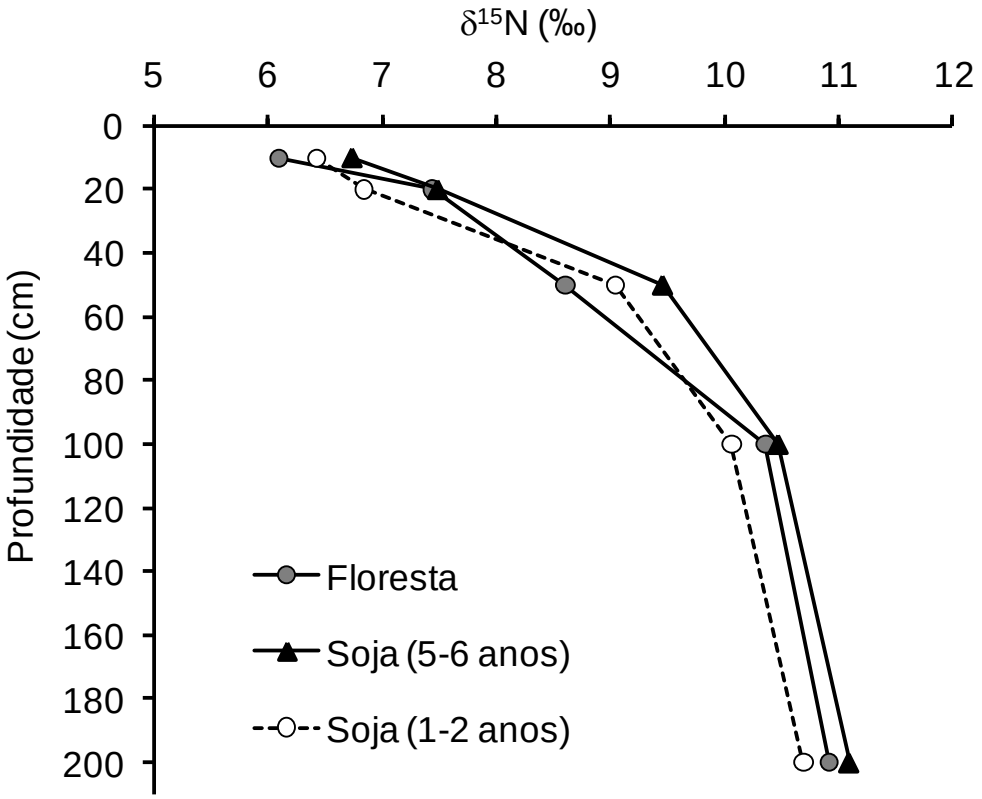


Figura 8 - Valores médios de $\delta^{15}N$ (‰) no perfil do solo nas áreas investigadas

Houve um aumento no $\delta^{13}C$ do solo em profundidade e este aumento foi mais expressivo nos solos de floresta (~4‰). O padrão observado em superfície repetiu-se nos primeiros 50 cm de profundidade, ou seja, o $\delta^{13}C$ do solo da floresta apresentou valores menores que o $\delta^{13}C$ dos solos cultivados e estes não diferiram entre si (Figura 9).

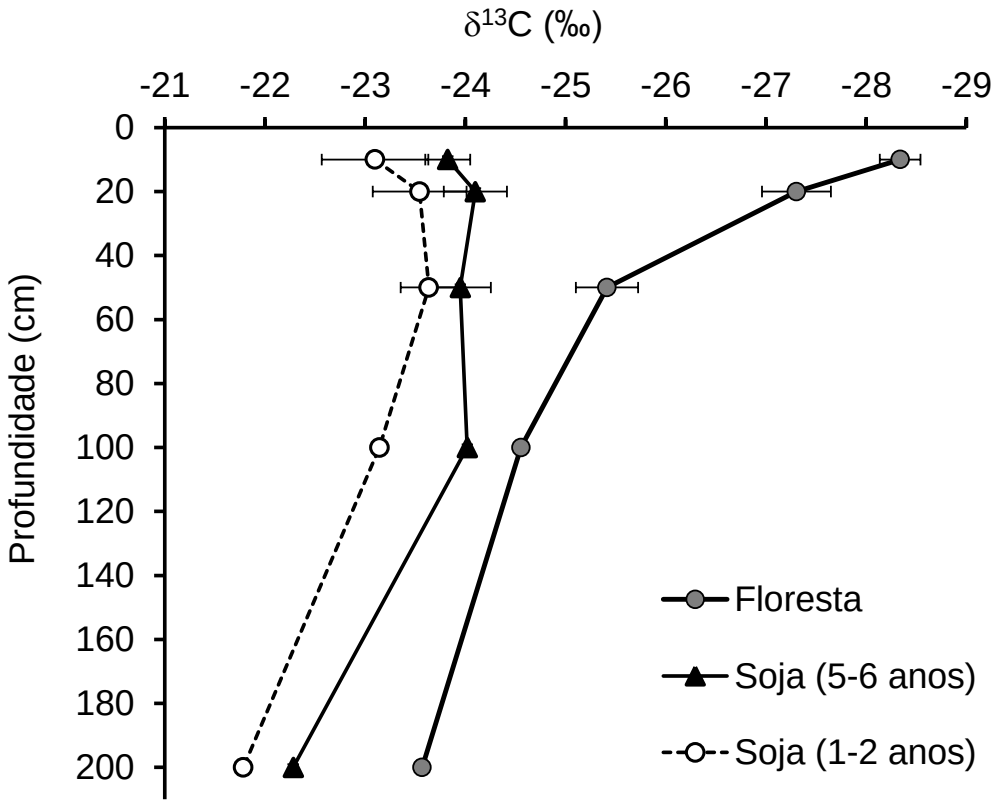


Figura 9 - Valores médios (± erro padrão) de $\delta^{13}C$ (‰) no perfil do solo (0 a 200 cm de profundidade) coletados nas áreas investigadas

4.3 Estoques de N e C no solo de floresta, pastagem e cronosequência de cultivos de soja

A partir da concentração de C e N e a densidade do solo, foi possível calcular o estoque de C e N no solo das áreas investigadas (Equação 3).

Em relação ao nitrogênio houve um aumento no estoque ao longo dos anos de cultivo, tendo a área de soja mais antiga (Soja 5-6 anos) estoque mais elevado de N em comparação aos cultivos mais recentes (Soja 1-2 anos) ($p<0,05$) (Figura 10A).

Não houve diferença significativa entre os estoques de N dos solos cultivados com soja e a pastagem, mas todas as áreas apresentaram estoque de N menores que o encontrado no solo da floresta ($p<0,05$). Mesmo assim, vale ressaltar que o estoque de N do solo cultivado há mais tempo com soja (Soja 5-6 anos) foi equivalente a 65% do nitrogênio total estocado no solo da floresta (Figura 10A).

Assim como observado nos estoques de nitrogênio, houve um decréscimo no estoque de carbono no solo da pastagem em relação à floresta ($p<0,05$). O cultivo de soja mais recente (Soja 1-2 anos) teve um estoque de carbono menor que o mais antigo (Soja 5-6 anos) ($p<0,05$) e ambos não diferiram da área de origem (pastagem). A floresta por sua vez, apresentou estoque de carbono mais elevado em relação aos solos cultivados com soja, independente da idade, e em relação à pastagem ($p<0,05$) (Figura 10B).

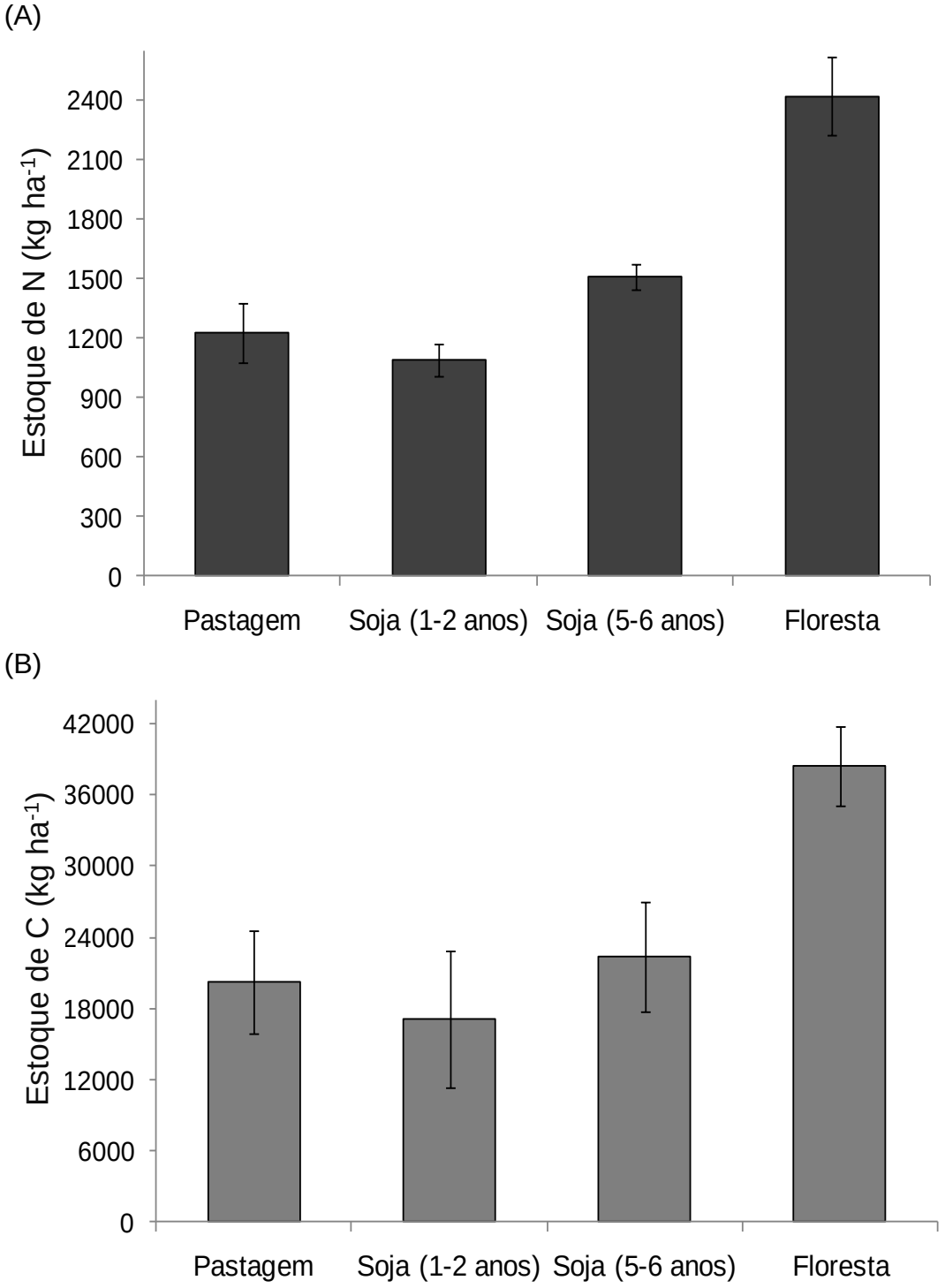


Figura 10 - Estoque médio (± erro-padrão) de nitrogênio (A) e de carbono (B) na camada superficial do solo (0 a 10 cm)

Considerando-se a camada 0-20 cm do solo, não foram observadas diferenças significativas entre os estoques de N dos cultivos de soja recentes (Soja 1-2 anos) e antigos (Soja 5-6 anos), mas todas ambas as áreas apresentaram estoque de N menores que o encontrado no solo da floresta ($p<0,05$) (Figura 11A).

Assim como observado nos estoques de nitrogênio, não foram observadas diferenças significativas nos estoques de carbono entre os cultivos de soja na camada 0-20cm de solo. Por outro lado, a floresta apresentou estoque de carbono mais elevado que o encontrado nos solos cultivados com soja, independente da idade ($p<0,05$) (Figura 10B).

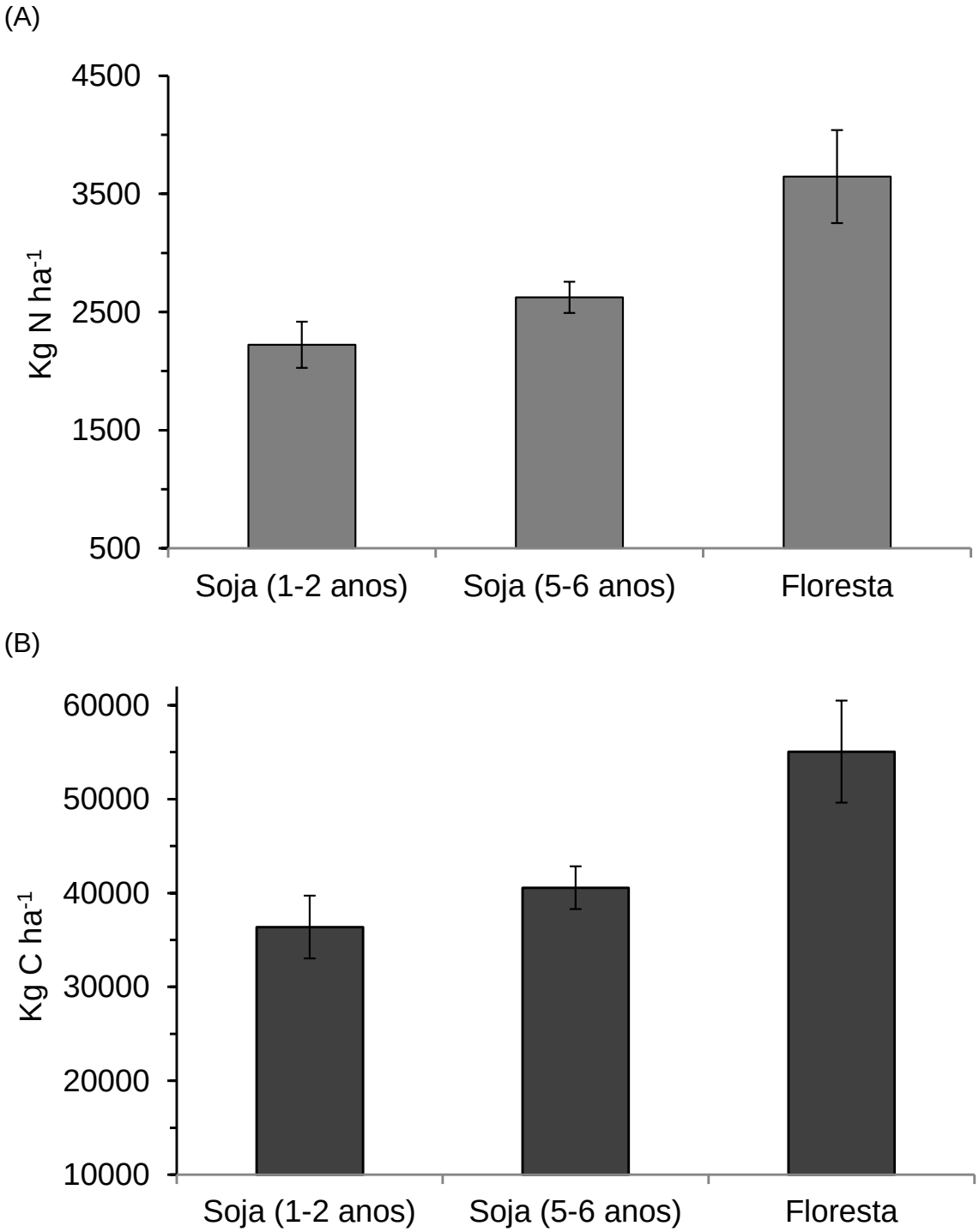


Figura 11 - Estoque médio (± erro-padrão) de nitrogênio (A) e de carbono (B) no solo (0 a 20 cm de profundidade)

Ao longo do perfil de solo, até a profundidade de 50 cm foi observada uma diminuição gradativa nos estoques de N independente da área (Figura 12). Este decréscimo, no entanto, foi mais evidenciado nos solos de floresta, onde foi observada uma redução em aproximadamente 1800 kg ha $^{-1}$ de N nos 50 cm de profundidade. Nos cultivos de soja, a diminuição no estoque de N foi menos expressiva que a observada na floresta (~800 kg ha $^{-1}$ N). A partir de 50 cm de profundidade todas as áreas apresentaram valores similares em termos de estoque de N (~500 kg ha $^{-1}$) (Figura 12).

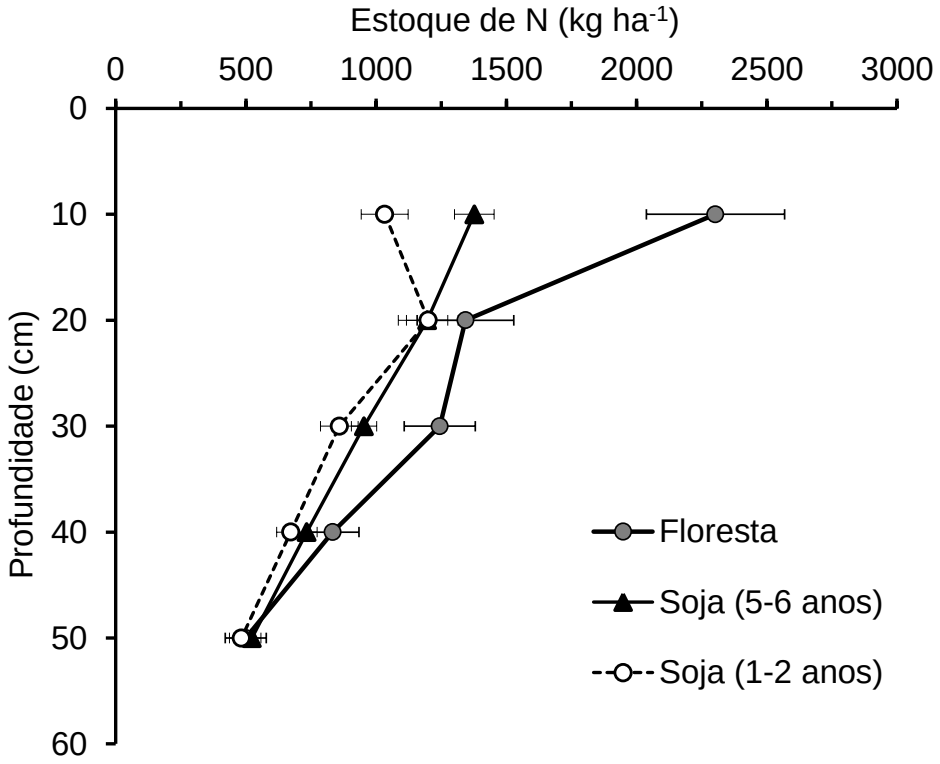


Figura 12 - Estoque médio (± erro padrão) de N no perfil do solo (0 a 50cm de profundidade) nas áreas estudadas

O padrão encontrado para os estoques de C ao longo do perfil de solo foi similar ao observado nos estoques de N, havendo também uma redução mais expressiva no estoque em profundidade na área de floresta (~25.300 kg ha $^{-1}$) (Figura 13).

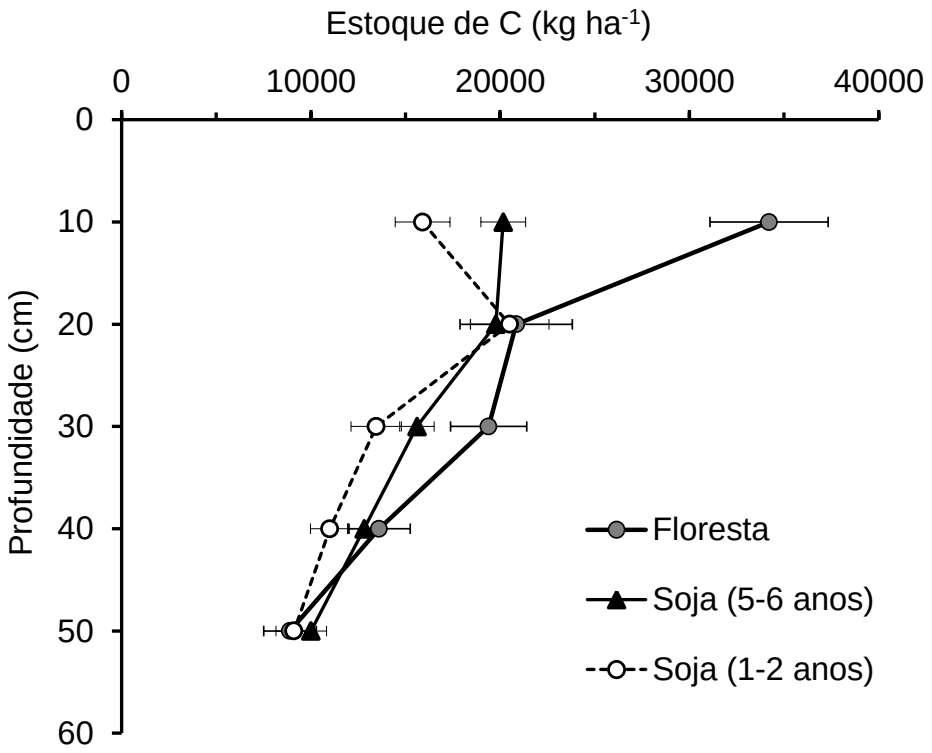


Figura 13 - Estoque médio (± erro-padrão) de carbono no perfil do solo nas áreas estudadas

4.4 Composição isotópica ($\delta^{15}N$ e $\delta^{13}C$) e concentração de N de plantas leguminosas e não-leguminosas nas áreas de floresta

Os valores de $\delta^{15}N$ foliar na floresta variaram entre 0,8 e 4,2‰. Não houve diferença estatística entre os grupos de leguminosas e não leguminosas, não sendo possível afirmar, baseado no $\delta^{15}N$ foliar, que as leguminosas estejam fixando N da atmosfera. A concentração de N e razão C/N (Tabela 6), no entanto, foi mais elevada em folhas de leguminosas comparadas às não leguminosas ($p<0,05$).

Valores de $\delta^{13}C$ foliar não diferiram entre os grupos de leguminosas e não-leguminosas.

Tabela 6 - Média (± erro-padrão) dos valores de $\delta^{15}N$, concentração de N e razão C/N da vegetação coletada na floresta na área de estudo agrupando-se as plantas em leguminosas e não leguminosas

	$\delta^{15}N$ (‰)	N (%)	$\delta^{13}C$ (‰)	C/N
Leguminosas (n=3)	3,2 (±1,1)	2,8 (±0,06)	-31,0 (±0,79)	18,0(±0,5)
Não-leguminosas (n=33)	2,2 (±0,17)	2,1 (±0,01)	-29,8 (±0,32)	25,8 (±1,1)

4.5 Quantificação da proporção de nitrogênio via FBN e saídas de N via colheita de grãos

A fim de realizar um balanço das entradas e saídas de N no cultivo da soja foram realizadas medidas e levantamentos que incluíram, entre outros parâmetros, a produtividade da fazenda e a concentração de N nos diversos compartimentos da planta.

As estimativas de FBN da soja, baseadas na abundância natural de ^{15}N, foram realizadas em uma área de cultivo recente (1 ano) e em uma área de cultivo antigo (6 anos) (Ver item 3.4, a)

O primeiro passo para estas estimativas foi a determinação dos valores de $\delta^{15}N$ e concentração de N da vegetação presente nestas áreas. Observou-se que no cultivo mais antigo (6 anos), a soja apresentou um sinal isotópico foliar ($\delta^{15}N$) mais próximo de FBN (valores de $\delta^{15}N$ próximo de 0‰) além de apresentar mais alta concentração de N em plantas de soja (Figura 14). Dessa forma, esta área foi considerada como padrão das estimativas de %N derivadas de FBN para todas as idades de cultivo de soja investigadas no presente estudo.

No cultivo recente (1 ano), o $\delta^{15}N$ da soja não foi próximo de 0‰, e a diferença entre o $\delta^{15}N$ da soja e o das plantas testemunhas não ultrapassou 2‰ (Figura 14). Dessa forma, não foi possível estimar, baseado no método da abundância natural de ^{15}N, a proporção de N derivado da FBN nestes cultivos. De qualquer forma, estes valores refletem uma baixa FBN ocorrendo nestas áreas.

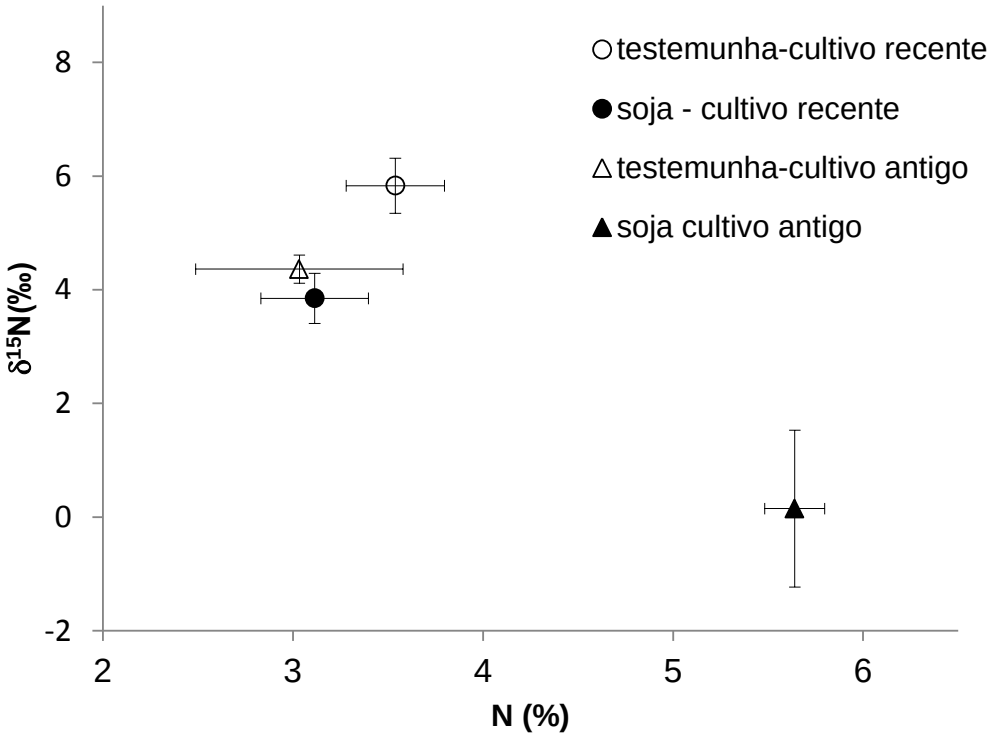


Figura 14 - Relação entre o $\delta^{15}N$ e concentração de N (média ± erro padrão) em espécies referência (não-fixadoras de N) e soja em cultivos recentes (1 ano) e antigos (6 anos)

A porcentagem de N derivada da FBN na planta (%FBN) foi calculada utilizando a Equação 4;

$\delta^{15}N_{controle}$=4,4 $\delta^{15}N_{soja}$=0,2, assim:

%FBN = [(4,4- 0,2)/4,4-(-1)]*100

%FBN = 79%

Para as estimativas da quantidade de N derivado de FBN na soja foi também considerada a biomassa total acumulada pela parte aérea da soja, e esta foi de 2.077 kg ha^{-1}.

Dessa forma, a quantidade total de N na planta derivada da FBN foi calculada pela multiplicação da %FBN (79%) pelo total de N acumulado pela planta (N acumulado na parte aérea + N acumulado na raiz) (Tabela 7), e este foi 158,6 kg ha^{-1}. Assim, a quantidade de N derivado da FBN na planta de soja para este estudo foi de 125,3 kg N ha^{-1}.

Utilizando-se a concentração de N no grão (55,0 ± 6,3 g kg^{-1}) e a produtividade média de grãos da fazenda (3.350 ± 683 kg ha^{-1}) foi estimada a saída média de N via colheita (~184 kg ha^{-1}) (Tabela 7).

Tabela 7 – Concentração média de nitrogênio (N) e biomassa nos diferentes compartimentos da cultura de soja em uma área cultivada com soja há 6 anos

Compartimento	Concentração de N (g kg^{-1})	Biomassa (kg ha^{-1})	N Total Acumulado (kg ha^{-1})
Parte aérea			148,20
Folhas	56,4	2,077	
Ramos	45,0	693	
Raiz	19,0	548	10,41
Grão	55,0	3,350*	184,2**

*Produtividade média da fazenda (kg ha^{-1})
**N exportado através da colheita de grãos.

4.6 Concentração de nitrogênio na forma de nitrato ($N\text{-}NO_3^-$) e nitrogênio na forma de amônio ($N\text{–}NH_4^+$) em solo de floresta e cronosequência de cultivos de soja

Na camada superficial do solo (0 a 10 cm), a concentração de $N\text{-}NO_3^-$ não diferiu estatisticamente entre as áreas. As médias encontradas foram de 4,2 (±1,51)mg kg^{-1} na floresta e 3,8 (±0,86)e 5,5 (±0,92) mg kg^{-1} na soja mais recente (1-2 anos) e mais antiga (5-6 anos), respectivamente (Figura 15A)

Em relação às concentrações de $N\text{-}NH_4^+$ na camada superficial do solo (0 a 10 cm), foi observado um aumento na concentração ao longo do tempo de cultivo de soja, tendo os cultivos mais antigos (Soja 5-6 anos) concentrações de $N\text{-}NH_4^+$ mais elevadas que os cultivos recentes (Soja 1-2 anos) ($p<0,05$). Os valores médios observados vão de 0,82 ± 0,19 mg kg^{-1} no cultivo mais recente (Soja 1- 2 anos) a 1,65 ± 0,20 mg kg^{-1} nos cultivos mais antigos (Soja 5-6 anos) (Figura 15B). As concentrações encontradas na floresta (2,41 ± 0,69 mg kg^{-1}) não diferiram estatisticamente das encontradas nos cultivos antigos (Soja 5-6 anos), mas foram mais elevadas que as encontradas nos cultivos recentes (Soja 1-2 anos) ($p<0,05$) (Figura 15B).

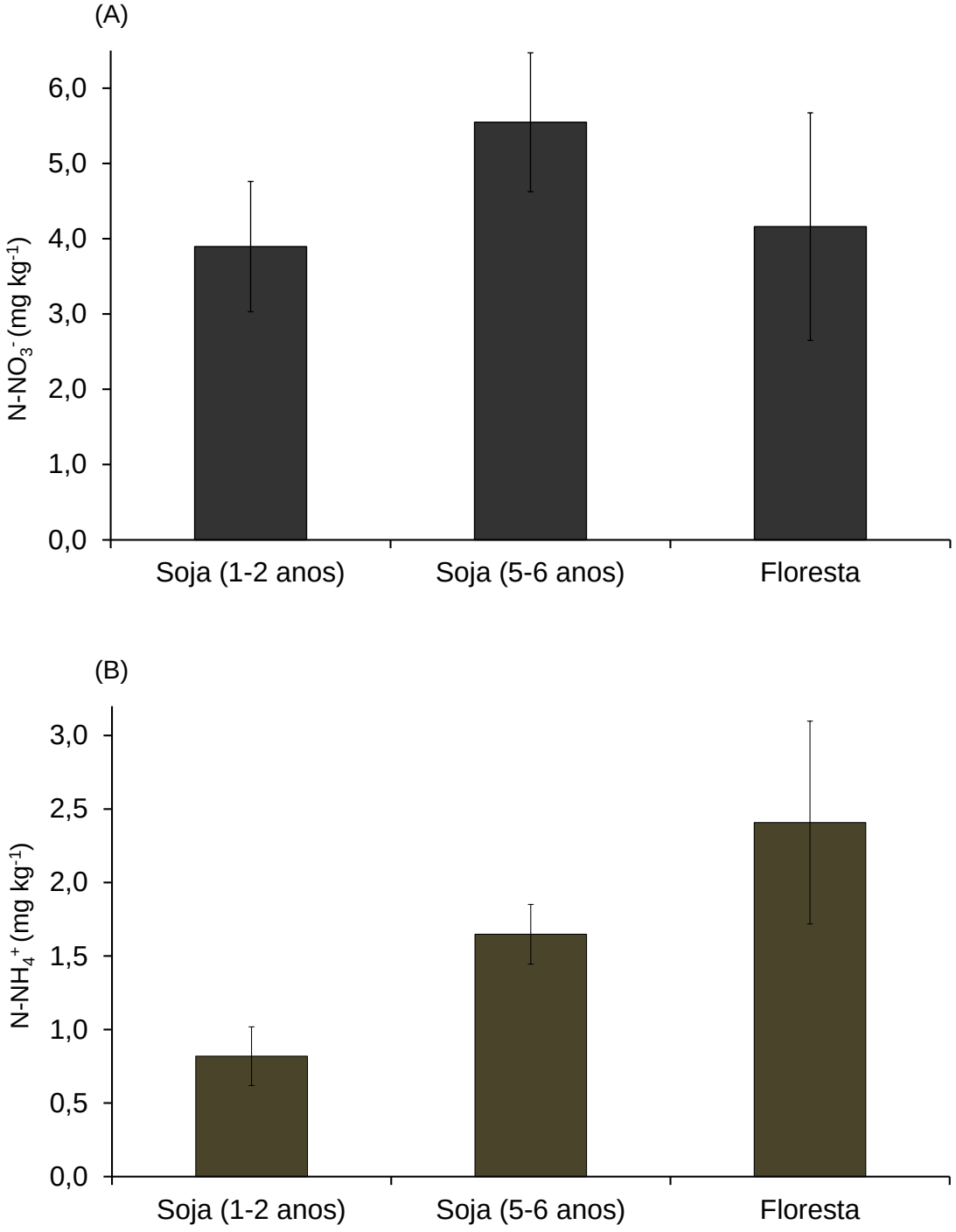


Figura 15 - (A) Concentrações de nitrato ($N\text{-}NO_3^-$) e (B) amônio ($N\text{-}NH_4^+$) (média ± erro padrão) no solo (0 a 10cm) em floresta e cronosequência de cultivos de soja

A relação $N\text{-}NO_3^-/N\text{-}NH_4^+$ na camada superficial do solo (0 a 10 cm), foi mais elevada na floresta ($p<0,05$) quando comparada aos cultivos. Não foram observadas diferenças significativas entre a Soja 1-2 e a Soja 5-6 anos (Figura 15).

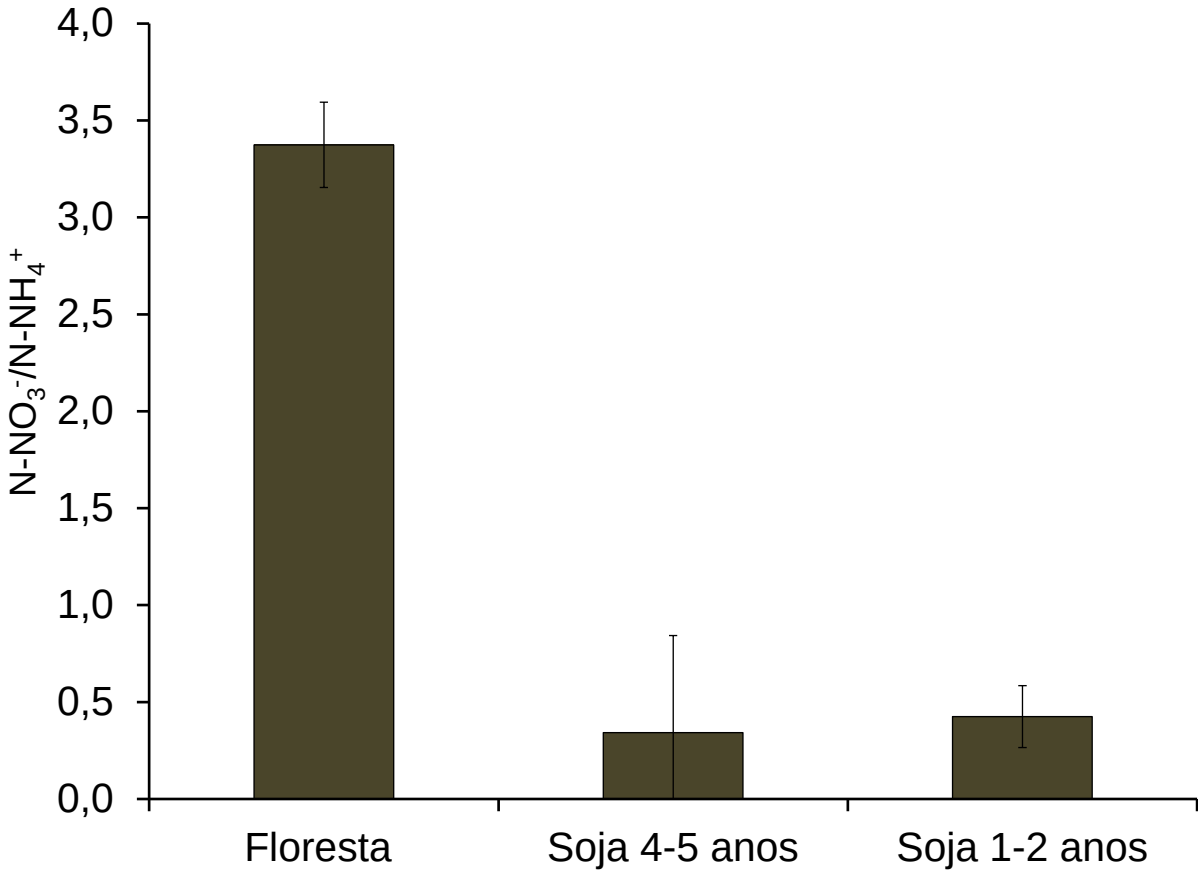
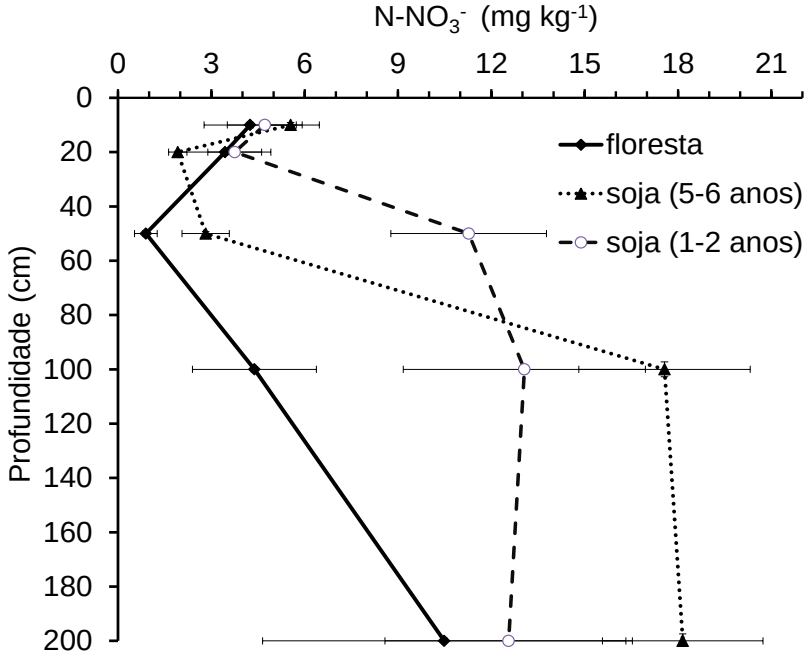


Figura 16 - Razão $N\text{-}NO_3^-/ N\text{–}NH_4^+$ na camada de solo superficial (0 a 10cm) em floresta e nas áreas cultivadas com soja

No perfil de solo (até 2 metros de profundidade) foi observada, em todas as áreas investigadas, uma diminuição nas concentrações de $N\text{-}NO_3^-$ na camada 10-20 cm. A partir de 50 cm de profundidade, houve um aumento na concentração de $N\text{-}NO_3^-$, sendo este aumento mais expressivo nos cultivos de soja, independente da idade de cultivo ($p<0,05$). Aos 2 m de profundidade não foram observadas diferenças significativas nas concentrações de $N\text{-}NO_3^-$ entre as áreas (Figura 17A).

O N–NH_4^+, por sua vez apresentou uma diminuição da concentração ao longo do perfil de solo, e este padrão foi observado em todas as áreas, chegando a ausência total de N–NH_4^+ em algumas delas (Figura 17B).

(A)



(B)

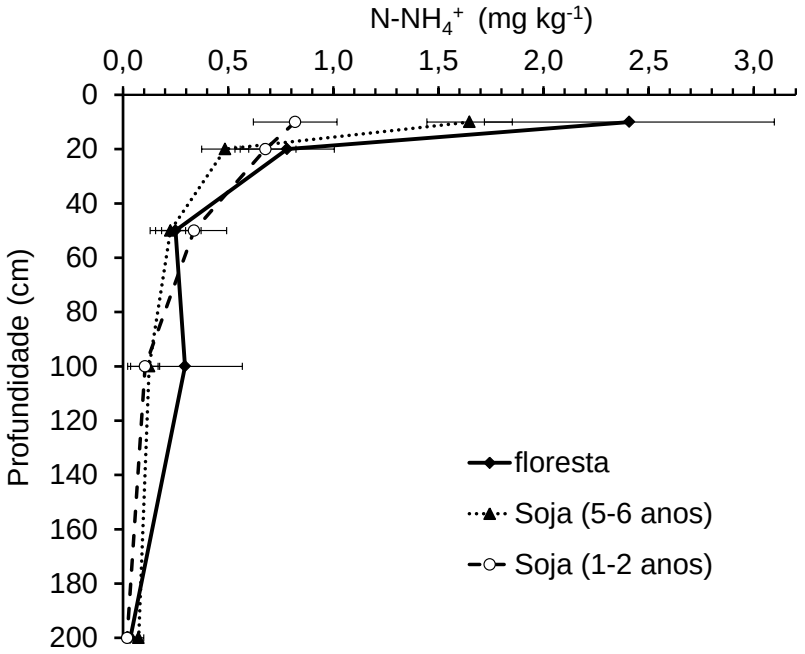


Figura 17 - Médias (±erro-padrão) de concentração de N-NO_3^- (A) e N–NH_4^+ (B) ao longo do perfil de solo nas áreas investigadas

Comparando-se a concentração de N-NO_3^- no perfil do solo (0- 5 metros) em trincheiras abertas em floresta e cultivo de soja, observou-se uma maior concentração de nitrato no cultivo de soja comparado à floresta, na camada superficial e a 1 metro de profundidade. Nas demais camadas não foram observadas diferenças entre as áreas, se nota, no entanto, uma maior concentração de nitrato no perfil do solo na soja comparado à floresta, mas devido ao número reduzido de dados este não foi comprovado estatisticamente. (Figura 18).

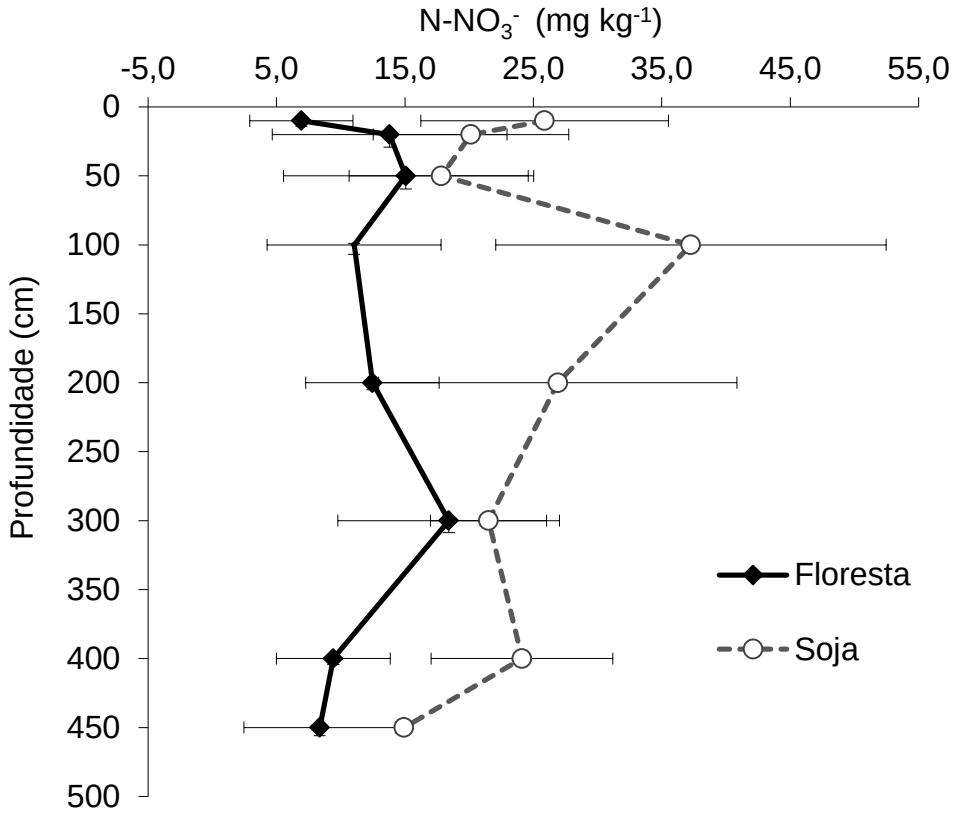


Figura 18 - Concentração de nitrato (N-NO_3^-) no perfil do solo em trincheiras (0-5 metros de profundidade) em áreas de soja e floresta (média ± erro padrão, n=3 para cada tratamento)

4.7 Taxas de mineralização e nitrificação líquida em solo de floresta e cronosequência de cultivos de soja

Não foram observadas diferenças estatísticas nas taxas de mineralização e nitrificação líquida entre as áreas investigadas (Figura 19).

As taxas de mineralização líquida tiveram médias de 0,73 (±0,35) e 1,33(±0,44) mg kg^{-1} na soja mais recente (1-2 anos) e mais antiga (5-6 anos), respectivamente, e de 0,58 (±0,41) mg kg^{-1} dia^{-1} na floresta (Figura 19).

As taxas de nitrificação líquida tiveram médias de 0,79 (±0,34) e 1,45 (±0,44) mg kg^{-1} na soja mais recente (1-2 anos) e mais antiga (5-6 anos), respectivamente, e de 0,69 (±0,43) mg kg^{-1} dia^{-1} na floresta (Figura 19).

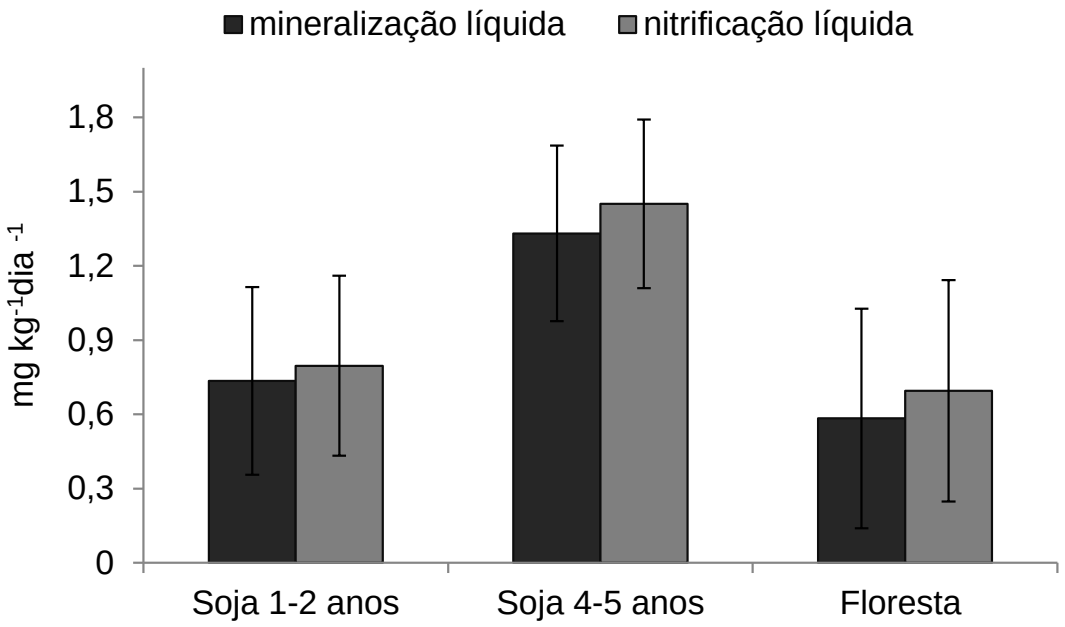


Figura 19 - Taxas de mineralização e nitrificação líquida no solo (0 a 10cm de profundidade) em áreas de soja e floresta (média ± erro padrão)

4.8 Balanço de nitrogênio em cultivos de soja

Para discutir-se em termos de excesso ou não de N no sistema ao longo dos cultivos, torna-se necessário um balanço de N. Este balanço contabilizaria tanto as

entradas como as saídas de N no sistema. O presente estudo, no entanto, não abrangeu todas as etapas do ciclo do N, mas com base na literatura e em estudos paralelos, pode-se chegar a um balanço aproximado, como a seguir:

$$\text{Balanço líquido de N} = \sum\text{entradas de N} - \sum\text{saídas de N} \quad \text{(Equação 5)}$$

Em termos de entradas, considerou-se a soma das entradas através de FBN (medido) e deposição atmosférica (revisão de literatura). Como saídas considerou-se a soma da exportação pela colheita de grãos (medido neste estudo), e deflúvios dos igarapés (RISKIN, 2012).

No que tange às entradas de N no sistema, ressalta-se a importância da deposição atmosférica. Estas entradas variam de região para região, bem como em função da intensidade de influência humana nestas, mas para a região Amazônica, a deposição de nitrogênio pela chuva em geral é baixa. Foram encontradas quatro estimativas de deposição atmosférica para a região Amazônia, sendo estimados os seguintes valores em região com cobertura florestal: 0,2 g N m^{-2} ano^{-1} (ANDREAE et al., 1990), 1 a 4 kg N ha^{-1} ano^{-1} (WILLIAMS; FISHER; MELACK, 1997) e 7 a 10 kg N ha^{-1} ano^{-1} em áreas de pastagem (TREBS et al., 2006). Será utilizado neste balanço o valor médio entre as estimativas (4 kg N ha^{-1} ano^{-1}).

Quanto às entradas via FBN (medidas por este estudo), estas estão em torno de 125,3 kg N ha^{-1}. Não foram registradas entradas de N via fertilizantes nitrogenados na área de estudo, no entanto ressalta-se a ocorrência de aplicação de pequenas doses de N, em outros plantios na Amazônia.

Resultados referentes às saídas de N pelos corpos d'água foram obtidos por estudos realizados em microbacias localizadas na área de abrangência deste estudo (RISKYN, 2012). Neste estudo foram consideradas microbacias em floresta e cultivo de soja. Ressalta-se que no referido estudo não foi levado em consideração o tempo de cultivo, mas em geral, as bacias na soja localizam-se em solos com cultivo há mais de 4 anos. Neste estudo, foram observados valores mais elevados de exportação tanto de NO_3^-, quanto de NH_4^+ em microbacias localizadas em área de soja quando comparadas àquelas localizadas em área de floresta (Tabela 8).

Tabela 8 – Exportação anual de nitrogênio (NO_3^-; NH_4^+) para corpos d'água em microbacias. localizadas em floresta e cultivos de soja. As concentrações são apresentadas em kg N ha^{-1} ano^{-1}. Adaptado de Riskin (2012).

Cobertura do solo	N-NO_3^- (kg ha^{-1} ano^{-1})	N-NH_4^+(kg ha^{-1} ano^{-1})
Floresta A	0,18	0,73
Floresta B	0,03	0,08
Floresta C	0,02	0,09
Média (Floresta)	**0,08**	**0,30**
Cultivo de soja A	0,16	0,98
Cultivo de soja B	0,64	1,61
Cultivo de soja C	0,20	0,99
Cultivo de soja D	0,45	0,93
Média (Cultivos)	**0,36**	**1,13**

Para fins de balanço de N, considerou-se como exportação anual de N, a soma das médias encontradas em cultivos de soja (N-NO_3^- + N-NH_4^+) (Tabela 8), e esta foi de 1,49 kg de N ha^{-1} ano^{-1}

Outra forma de saída de nitrogênio no sistema é a colheita de grãos (ALVES et al., 2006). Na área de abrangência deste estudo, esta exportação está em torno de 184 kg N ha^{-1} (ver item 4.5).

Quanto às saídas de N via emissão de gases nitrogenados, não incluídas neste balanço. Segundo levantamentos realizados em cultivos de soja no Cerrado, os fluxos de N_2O encontrados são geralmente muito baixos e não diferem dos encontrados na vegetação nativa (FERNANDES CRUVINEL et al., 2011). Para cultivos de soja na região de abrangência do presente estudo não foram encontradas estimativas de emissões gasosas.

Assim, substituindo-se os termos da equação 5, tem-se:

Balanço líquido de N= (125,3 +4)- (184+1,49) = - 56,2 kg de N ha^{-1} ano^{-1}

O balanço de nitrogênio (entradas – saídas) foi negativo, indicando que o nitrogênio neste caso está sendo perdido pelo sistema. Entretanto, este balanço deve ser visto com cautela, e servindo apenas como um exercício, pois as saídas pela colheita de grãos podem ter sido superestimadas, já que trabalhou-se com a produtividade média da fazenda, assim como as entradas via FBN podem ter sido subestimadas. Além disso, não foram contabilizadas todas as entradas de N reativo no sistema, as perdas por desnitrificação, bem como o nitrogênio remanescente nos resíduos da cultura, no período pós-colheita.

5 DISCUSSÃO

5.1 Conversão floresta-pastagem

No presente estudo, a diminuição dos estoques de N e C no solo sob pastagem em relação ao solo sob floresta foi significativa (Figura 9). Em geral, a conversão floresta-pastagem inclui derrubada e queima da vegetação e este processo promove altas emissões de CO_2, CH_4 e, sobretudo N_2O (FEIGL; STEUDLER; CERRI, 1995; MELILLO et al., 2001). Adicionalmente, durante a limpeza da área, que envolve queima da biomassa, o N associado a esta é volatilizado e grande parte é emitida para a atmosfera nas formas de NH_3 e NOx (TREBS et al., 2006). A pastagem avaliada neste estudo foi implementada há cerca de 20 anos de uso. Neste período, aparentemente, houve uma diminuição de 50% dos estoques de C e N em relação aos estoques observados no solo sob floresta. Por outro lado, Carvalho et al. (2010) demostraram que a conversão de vegetação nativa em pastagem pode conferir ao solo tanto uma característica de fonte como de sumidouro de CO_2, dependendo do manejo do solo. Segundo os autores, pastagens estabelecidas em solos férteis acumularam carbono ao longo do tempo, por outro lado, pastagens implementadas em solos com baixa fertilidade (como é o caso da maioria dos solos da Amazônia) geralmente promovem perdas de carbono ao longo dos anos.

As pastagens na Amazônia geralmente utilizam a gramínea *Brachiaria spp*, e nestes sistemas as perdas de N no processo de conversão podem ser amenizadas ao longo do tempo de uso, pela contribuição da FBN associada a esta gramínea. No presente estudo, no entanto, não foi possível afirmar pelo sinal isotópico do solo, a contribuição efetiva da FBN da gramínea no estoque de N encontrado no solo. Pelo contrário, os altos valores de ^{15}N encontrados no solo da pastagem podem estar refletindo altas perdas de N do sistema, estas ocorreriam ou através da erosão que traria para a superfície camadas de solo mais profundas e, portanto mais enriquecidas em ^{15}N, ou pelo fracionamento via processos de nitrificação e denitrificação e consequentes perdas na forma de NO_3 e N_2, processo este que eleva o $\delta^{15}N$ do solo. Em geral perdas de N do solo, com exceção da lixiviação de

NO_3^-, envolvem transformações que promovem enriquecimento do substrato (HÖGBERG E JOHANNISSON, 1993).

5.2 Modificações nas características físicas e químicas do solo ao longo dos cultivos

A substituição da pastagem pelo cultivo de soja, causou modificações expressivas nas características físicas e químicas do solo o que por sua vez influenciaram de modo significativo a dinâmica de N nestas áreas.

No presente estudo observou-se que, em termos comparativos, a floresta e os cultivos de soja apresentam de um modo geral diferenças marcantes nas propriedades químicas e físicas dos solos, o que pode ser atribuído, principalmente ao manejo e preparo do solo para o plantio, além da influência do uso anterior da área por pastagem por longo intervalo de tempo (cerca de 20 anos).

O preparo o solo para o cultivo nos primeiros dois ciclos de soja é realizado adotando-se práticas de plantio convencional *(comunicação pessoal, gerência Fazenda Tanguro)* no qual se observa principalmente o revolvimento do solo para o cultivo, fato que, como confirmam os resultados deste estudo (Tabela 4), provoca um aumento na densidade do solo, devido, entre outros fatores, à compactação do solo durante o preparo da área para o plantio. Além desse fator, o uso prévio das áreas por pastagem, também consiste em um agravante para a alta densidade do solo nos primeiros anos de cultivo (ARAÚJO et al., 2004). Após 5-6 anos de cultivo a densidade do solo diminui e este, entre outros fatores estão relacionados à adoção de práticas de plantio direto, conforme será discutido adiante.

As modificações observadas quanto às propriedades químicas do solo também se devem à adoção de práticas de manejo da área para o cultivo, como por exemplo, a aplicação de elevadas quantidades de calcário para correção de pH, o que como observado neste estudo, torna o pH menos ácido nos solos cultivados que na floresta, além da adubação com nutrientes (exceto nitrogênio) que modifica as características químicas dos cultivos, principalmente quando comparados à floresta (Tabelas 4 e 5). Apesar de não se constituir o foco de trabalho deste estudo, é importante ressaltar a concentração elevada de fósforo (P) no solo nos primeiros

anos de cultivo. Estes altos valores se devem ao intensivo preparo do solo para o primeiro ciclo de cultivo de soja, onde altas quantidades de fósforo são frequentemente aplicadas (SANTOS; KAMINSKII, 2008). A aplicação de grandes quantidades de fertilizantes fosfatados se deve principalmente a capacidade dos solos tropicais de adsorver grandes teores deste nutriente, inviabilizando assim a disponibilidade mínima deste para as plantas (SANTOS; KAMINSKII, 2008; SYERS; JOHNSTON; CURTIN, 2008). Valadão Junior et al. (2008) demonstrou por exemplo, efeitos positivos na produtividade de grãos de soja no Estado de Rondônia, devido ao aumento nas doses de P em solos pobres neste nutriente.

Após os primeiros ciclos, e com a adoção do plantio direto, as práticas de manejo preservam um pouco mais as características naturais do solo (BAYER; MIELNICZUK, 1997; SHAVER et al., 2002; SIX; ELLIOTT; PAUSTIAN, 2000; SIX et al., 2002). Por exemplo, não há revolvimento do solo, na maioria dos casos a adubação é mínima e os resíduos da cultura permanecem no solo entre os ciclos de cultivo soja, o que protege as camadas superficiais combatendo a erosão e as perdas de nutrientes, além de manter a umidade do solo nos períodos de seca (GREGO et al., 2006; SALTON; MIELNICZUK, 1995). Os resultados deste estudo mostraram, por exemplo, um aumento da matéria orgânica do solo ao longo dos anos de cultivo, segundo alguns autores (BALESDENT; CHENU; BALABANE, 2000; SIX; ELLIOTT; PAUSTIAN, 1999) este aumento está estreitamente relacionado ao retorno dos resíduos culturais associado ao não revolvimento do solo a partir do segundo ano de cultivo. Apesar deste aumento na MO, o estoque de carbono nos cultivos ainda foi cerca de duas vezes menor do que o encontrado na floresta, o que provavelmente se deve à menor cobertura vegetal encontrada nos cultivos, e a variabilidade de micro-organismos presentes nestes sistemas.

5.3 Contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN) na floresta e nos cultivos de soja na área de estudo.

Não foi possível afirmar, baseando-se nos valores de $\delta^{15}N$ das folhas, que a fixação de N esteja ocorrendo de forma expressiva na área de floresta investigada neste estudo. A média, em torno de 3‰ é maior que a média encontrada em plantas do Cerrado (0,4 ±2,3 ‰) e menor que a média encontrada na Amazônia (5 a 7,5‰) (BUSTAMANTE et al., 2004; NARDOTO et al., 2008). Os valores de $\delta^{13}C$ foliar também se apresentam na faixa intermediária entre os valores encontrados em área de Cerrado e floresta Amazônica. A floresta na área de estudo caracteriza-se como uma fisionomia de transição entre estes os dois biomas (Cerrado e Amazônia) e isto pôde ser evidenciado em termos de composição isotópica da vegetação.

Mesmo não tendo sido evidenciados fortes indícios de FBN na floresta em questão, é interessante notar que a concentração de N foi maior e razão C:N menor nas folhas de leguminosas quando comparadas às folhas de não leguminosas (Tabela 6). Esta tendência tem sido observada em vários outros estudos conduzidos em ecossistemas tropicais terrestres e, provavelmente, reflete uma capacidade mais eficiente de assimilação de N pelas espécies de leguminosas (BUSTAMANTE et al., 2004; ROGGY et al., 1999; VITOUSEK et al., 2002). Por outro lado, a não constatação de fixação de N em florestas tropicais primárias parece ser uma constante (VITOUSEK et al., 2002). Roggy et al. (1999), por exemplo estimaram que o nitrogênio derivado da FBN está em torno de 6-8 kg N ha^{-1} ou 5% dos estoques de N em uma floresta primária na Guiana Francesa.

Em contrapartida, no que se refere aos cultivos de soja, pelo menos nas áreas cultivadas há mais tempo, a FBN parece contribuir com quantidades mais expressivas de N em comparação à floresta primária investigada neste estudo. Estudos em cultivos de soja no Cerrado (MACEDO e MIRANDA, 2001) mostram que em plantio convencional, como é o caso dos cultivos mais recentes do presente estudo, as taxas de fixação de N_2 são geralmente menores que as encontradas no plantio direto e isso está associado à preparação mecânica do solo, que aumenta os sítios de exposição à atividade microbiana e consequentemente a mineralização, promovendo assim uma maior disponibilidade de N.

Os cultivos mais antigos, por sua vez, demonstraram ter uma FBN mais eficiente, com altas contribuições no N acumulado nos tecidos da planta (cerca de 78% do N é derivado da FBN). Nestes cultivos são adotadas práticas de plantio direto que são reconhecidas por favorecerem a FBN (ALVES; BODDEY; URQUIAGA, 2003; ALVES et al., 2002; WHEATLEY; MACLEOD; JESSOP, 1995). Conforme observado no presente estudo, a elevada eficiência na FBN nos cultivos mais antigos (Soja 5-6 anos) indica que a utilização do plantio direto, entre outros benefícios, parece estimular o processo simbiótico, e isto pode estar ocorrendo devido à menor disponibilidade de N no solo, em razão da maior imobilização da população microbiana do solo (KESSEL; VAN e HARTLEY, 2000). Além disso, práticas de plantio direto diminuem a temperatura do solo e preservam a umidade, o que gera condições adequadas de fixação de N (HUNGRIA; VARGAS, 2000).

5.4 Modificações na ciclagem de N ao longo do tempo de cultivo de soja

Em termos de ciclagem de N ao longo do tempo de cultivo de soja, algumas inferências podem ser feitas com base nos resultados apresentados. Primeiramente, o alto enriquecimento em ^{15}N do solo observado na pastagem em relação à floresta (Figura 6A) pode ser atribuído, conforme discutido anteriormente, às perdas elevadas de N observadas no processo de conversão floresta-pastagem (MURTY et al., 2002; REINERS et al., 1994). Conforme observado em outras áreas na Amazônia (NEILL et al., 1997), neste estudo também foi verificada uma diminuição na concentração de N nos solos da pastagem comparada à cobertura prévia por floresta. Altas perdas de N promovem um enriquecimento em ^{15}N no sistema, aumentando, consequentemente, os valores de $\delta^{15}N$ do substrato (HÖGBERG, 1997).

Apesar dos solos dos cultivos apresentarem uma diminuição no $\delta^{15}N$ quando comparados à pastagem (Figura 7), estes não parecem refletir efetivamente o N derivado de FBN, ou seja não apresentaram valores baixos de $\delta^{15}N$. Se a contribuição da fixação biológica de N fosse relevante no estoque de nitrogênio do solo, o $\delta^{15}N$ deste seria reduzido, pois o fracionamento isotópico neste processo é

nulo ou insignificante, conferindo às plantas fixadoras, um sinal isotópico próximo do encontrado na atmosfera (HÖGBERG, 1997). Dessa forma, apesar de esperar-se que ao longo do tempo, os cultivos de soja promovessem, pela FBN, uma redução significativa nos valores de $\delta^{15}N$ do solo, ainda não foi possível observar nestes resultados, reflexos efetivos da FBN na assinatura isotópica do solo. A mudança na composição isotópica do solo parece ser um processo lento, principalmente se considerarmos que a conversão partiu de pastagem, com valores muito elevados de $\delta^{15}N$. Mesmo assim, o fato de os valores de $\delta^{15}N$ no solo dos cultivos serem intermediários entre a pastagem e a floresta, parece indicar que este processo pode estar ocorrendo, ainda que lentamente.

Conforme observado nos resultados de concentração de N e estoques de N e C no solo (Figuras 5 e 10), é possível afirmar que o solo, ao longo dos anos de cultivo, pode retornar aos níveis de estoque encontrados na floresta, e que provavelmente os cultivos de soja estão ao longo do tempo acumulando nutrientes nestes solos. Vale ressaltar que tanto para os estoques de nitrogênio como para o carbono, diferenças marcantes são observadas entre os solos de floresta e a pastagem, indicando uma grande perda nos estoques de nutrientes no processo de conversão, e que potencialmente não são totalmente recuperados mesmo ao longo de muitos anos.

É importante ressaltar que parte do carbono que se encontra no solo nas áreas cultivadas com soja advém do cultivo inicial com gramíneas tropicais que seguem o ciclo fotossintético conhecido como "C_4". Nos cultivos mais recentes os solos apresentaram valores que refletem a cobertura anterior por essas gramíneas, as quais caracteristicamente têm valores de $\delta^{13}C$ em torno de -12‰ a -13‰ (Figura 9). Conforme o tempo de cultivo da soja vai aumentando, o carbono produzido por essa cultura vai paulatinamente substituindo o carbono originado pelas gramíneas (Figura 9).

As entradas de N através da fixação biológica (cerca de 125 kg N ha^{-1}), podem ser um dos fatores responsáveis por este aumento nos estoques de N. Aliado a isto, também se inclui a adoção das práticas de manejo com plantio direto a partir do segundo ano de cultivo, onde há o acúmulo de resíduos culturais de soja entre os ciclos de cultivo. A soja é uma planta pertencente à família das leguminosas, e,

portanto, é reconhecida pela alta concentração de N em seus tecidos (MCKEY, 1994; YONEYAMA et al., 1993).

A maior disponibilidade de N em um sistema pode ser indicada pela a razão NO_3^-/ NH_4^+ (DAVIDSON et al., 2000). No presente estudo, a razão NO_3^-/ NH_4^+ na camada superficial do solo (0 a 10cm) foi mais elevada na floresta quando comparada aos cultivos (Figura 16), ou seja, há uma dominância de NO_3^- sobre NH_4^+. De acordo com Davidson et al. (2000), em solos onde este padrão é observado, há um possível excesso de N, o que promoveria uma ciclagem mais aberta de N, onde perdas gasosas e por lixiviação são potencializadas. A menor razão NO_3^-/ NH_4^+ observada nos cultivos pode estar relacionada ao uso prévio da área por pastagem por aproximadamente 20 anos, onde grandes quantidades de nitrogênio foram perdidas e não foram recuperadas pela cultura da soja, mesmo após 6 anos de cultivo. Nas camadas mais profundas do solo, no entanto, este padrão parece não existir. Conforme observado na Figura 17 e 17, nas camadas profundas do solo há uma predominância de NO_3^- nos cultivos em comparação aos solos de floresta, e isto pode estar relacionado à intensificação nos processos de lixiviação, devido principalmente à maior exposição do solo nas áreas de cultivos. Indícios dessa maior disponibilidade de N reativo nos cultivos é tambem verificada pela maior exportação anual de nitrato nas microbacias localizadas em cultivos de soja (Tabela 8).

As concentrações de nitrato encontradas neste estudo não diferiram entre as áreas na camada superficial, mas em profundidade valores mais elevados de N-NO_3^- foram observados no perfil do solo, especialmente entre 1 e 2 metros de profundidade nos cultivos de soja. Este padrão pode ser explicado pela mudança de carga do solo, frequentemente observado em solos tropicais (COCHRANE; SOUZA, 1985; MOTAVALLI et al., 1995). A presença de cargas positivas pode favorecer a adsorção do ânion nitrato ao solo, promovendo assim acúmulo deste em camadas profundas do solo. A capacidade de retenção do nitrato no solo não é completamente conhecida, ou seja, não se sabe exatamente até que ponto este solo pode evitar, por exemplo, a contaminação dos mananciais adjacentes aos cultivos. Dessa forma, quando este solo tropical é convertido em cultivo agrícola, como a soja, isto pode dificultar a interpretação do real efeito do cultivo em termos de

disponibilização de nitrogênio reativo no sistema, especialmente no que tange aos corpos d’água.

6 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostraram que, de um modo geral, evidencia-se um padrão de acúmulo de nitrogênio no solo ao longo do tempo de cultivo de soja, indicando um possível retorno gradual aos estoques encontrados na floresta antes do processo de conversão para pastagem e cultivo de soja, este retorno, no entanto, não parece acontecer a médio-prazo. Os estoques de N encontrados nos solos das áreas de cultivos, mesmo após seis ciclos de cultivo com leguminosa ainda são muito inferiores aos encontrados na floresta antes da conversão à pastagem. Mesmo assim as altas concentrações de nitrato em solo profundo nos cultivos refletem grandes perdas de N ocorrendo nos cultivos e que podem potencialmente afetar os corpos d'água adjacentes, pois não é conhecida a capacidade exata de retenção deste nitrato em solos tropicais.

A composição isotópica ($\delta^{15}N$) do solo nos cultivos, embora apresente uma redução em relação aos valores de $\delta^{15}N$ encontrados no solo da pastagem (uso anterior ao cultivo), não refletiu de maneira evidente a influência da FBN ocorrendo nos cultivos no acúmulo de N no solo, visto que os valores encontrados ainda são elevados em relação aos encontrados na floresta. Provavelmente 6 anos de cultivo ainda não são suficientes para modificar a assinatura isotópica do solo ao ponto desta retornar aos valores encontrados na floresta. Estudos em cultivos mais antigos e/ou monitoramento dos cultivos ao longo dos anos podem consistir em uma abordagem mais eficiente e complementar ao presente estudo, a fim de confirmar esta hipótese.

Vale ressaltar que essa nova corrente de mudança no uso do solo na Amazônia, com a introdução de cultivos de leguminosas e entrada de grandes aportes de N reativo no sistema, difere do padrão de ciclagem de N que vem ocorrendo na região nas últimas décadas e portanto, as consequências ambientais são desconhecidas à longo prazo. Desta forma, uma avaliação deste padrão de mudança no uso e cobertura do solo deve ser estendida para outros ecossistemas da fronteira agrícola com características diferentes das abordadas no presente estudo.

REFERÊNCIAS

ALENCAR, A. A. et al. **Desmatamento na Amazônia**: indo além da “emergência crônica**”**. Manaus: Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia, 2004.

ALVES, B. et al. Benefit of legume-fixed N in crop rotations under zero-tillage. In: PEDROSA, F. O. et al. (Ed.). **Nitrogen fixation**: from molecules to crop productivity. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2002. p. 533–534. (Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture, 38).

ALVES, B. J. R. et al. Biological nitrogen fixation and nitrogen fertilizer on the nitrogen balance of soybean, maize and cotton. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 41, n. 3, p. 449–456, mar. 2006.

ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. The success of BNF in soybean in Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 252, n. 1, p. 1–9, 2003.

ANDREAE, M. O. et al. Precipitation chemistry in central Amazonia. **Journal of Geophysical Research**, Washington, DC, v. 95, n. D10, p. 16987–16999, 1990.

ARAÚJO, E. A. et al. Uso da terra e propriedades físicas e químicas de Argissolo Amarelo distrófico na Amazônia Ocidental. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 28, n. 2, p. 307-315, 2004.

ATKINS, C. A. et al. A metabolic connection between nitrogenase activity and the synthesis of ureides in nodulated soybean. **Physiologia Plantarum**, Kobenhavn, v. 84, n. 3, p. 441–447, 1992.

BALCH, J. K. et al. Negative fire feedback in a transitional forest of southeastern Amazonia. **Global Change Biology**, Oxford, v. 14, n. 10, p. 2276–2287, 2008.

BALESDENT, J.; CHENU, C.; BALABANE, M. Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 53, n. 3, p. 215–230, 2000.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Características químicas do solo afetadas por métodos de preparo e sistemas de cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 21, n. 1, p. 105–112, 1997.

BECKER, B. K. Geopolítica da Amazônia. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 19, n. 53, p. 71–86, 2005.

BERGERSEN, F. J.; PEOPLES, M. B.; TURNER, G. L. Isotopic discriminations during the accumulation of nitrogen by soybeans. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 15, n. 3, p. 407–420, 1988.

BOYER, E. W. et al. Anthropogenic nitrogen sources and relationships to riverine nitrogen export in the northeastern USA. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 57, n. 1, p. 137–169, 2002.

BUSTAMANTE, M. M. C. et al. 15N natural abundance in woody plants and soils of central Brazilian savannas (Cerrado). **Ecological Applications**, Washington, DC, v. 14, n. sp4, p. 200–213, 2004.

CARVALHO, J. L. N. et al. Potential of soil carbon sequestration in different biomes of Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 2, p. 277–290, 2010.

CHALK, P. M. et al. Integrated effects of abiotic stresses on inoculant performance, legume growth and symbiotic dependence estimated by 15 N dilution. **Plant and soil**, Dordrecht, v. 328, n. 1, p. 1–16, 2010.

CLEVELAND, C. C. et al. Global patterns of terrestrial biological nitrogen (N2) fixation in natural ecosystems. **Global Biogeochemical Cycles**, Washington, DC, v. 13, n. 2, p. 623–645, 1999.

COCHRANE, T. T.; SOUZA, D. M. G. DE. Measuring surface charge characteristics in oxisols and ultisols. **Soil Science**, New Brunswick, v. 140, n. 3, p. 223–229, 1985.

COHENCA, D. **A expansão da fronteira agrícola e sua relação com o desmatamento detectado em imagens Landsat TM e ETM+ na região norte da BR-163, Pará entre os anos de 1999 a 2004**. 2005. Monografia (Especialização em Gestão e Manejo Ambiental em Sistemas Florestais) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=546&t=2>. Acesso em: 2 jan. 2013.

CURTIS, J. T.; MCINTOSH, R. P. The interrelations of certain analytic and synthetic phytosociological characters. **Ecology**, Brooklyn, v. 31, n. 3, p. 434–455, 1950.

DANSO, S. K. A.; HARDARSON, G.; ZAPATA, F. Misconceptions and practical problems in the use of 15N soil enrichment techniques for estimating N2 fixation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 152, n. 1, p. 25–52, 1993.

DAVIDSON, E. A. et al. Testing a conceptual model of soil emissions of nitrous and nitric oxides. **BioScience**, Washington, DC, v. 50, n. 8, p. 667–680, 2000.

DÖBEREINER, J. Evaluation of nitrogen fixation in legumes by the regression of total plant nitrogen with nodule weight. **Nature**, London, v. 210, p. 850-852, 1966.

DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation in the tropics: social and economic contributions. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 5, p. 771–774, 1997.

EMBRAPA. **Soja em números** (safra 2010/2011). Londrina: Embrapa Soja. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=294&cod_pai=16>. Acesso em: 2 jan. 2013.

FEARNSIDE, P. M. Global warming and tropical land-use change: greenhouse gas emissions from biomass burning, decomposition and soils in forest conversion, shifting cultivation and secondary vegetation. **Climatic Change**, Dordrecht, v. 46, n. 1, p. 115–158, 2000.

FEARNSIDE, P. M. Soybean cultivation as a threat to the environment in Brazil. **Environmental Conservation**, Lausanne, v. 28, n. 1, p. 23–38, 2001.

FEARNSIDE, P. M. Deforestation in Brazilian Amazonia: history, rates, and consequences. **Conservation Biology**, Cambridge, v. 19, n. 3, p. 680–688, 2005.

FEIGL, B. J.; STEUDLER, P. A.; CERRI, C. C. Effects of pasture introduction on soil CO 2 emissions during the dry season in the state of Rondônia, Brazil. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 31, n. 1, p. 1–14, 1995.

FERNANDES CRUVINEL, Ê. B. et al. Soil emissions of NO, N_2O and CO_2 from croplands in the savanna region of central Brazil. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 144, n. 1, p. 29–40, 2011.

FILOSO, S. et al. Human activities changing the nitrogen cycle in Brazil. In: MARTINELLI, L. A.; HOWARTH, R. W. **Nitrogen Cycling in the Americas**: natural and anthropogenic influences and controls. Heidelberg: Springer, 2006. p. 61–89.

FRIED, M.; DANSO, S. K. A.; ZAPATA, F. The methodology of measurement of N2 fixation by nonlegumes as inferred from field experiments with legumes. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 29, n. 8, p. 1053–1062, 1983.

GALLOWAY, J. N. The global nitrogen cycle: changes and consequences. **Environmental Pollution**, London, v. 102, n. 1, p. 15–24, 1998.

GALLOWAY, J. N. et al. Nitrogen cycles: past, present, and future. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 70, n. 2, p. 153–226, 2004.

GEHRING, C. et al. Biological nitrogen fixation in secondary regrowth and mature rainforest of central Amazonia. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 111, n. 1, p. 237–252, 2005.

GREGO, C. R. et al. Geostatistical analysis for soil moisture content under the no tillage cropping system. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n. 4, p. 341–350, 2006.

HARD, D. L. Innovative developments in the production and delivery of alternative protein sources. **Protein sources for the animal feed industry**. Rome: FAO, 2002. p. 125–140. (Animal and Production Health Proceedings, 1).

HARDY, R. W. F. et al. The acetylene-ethylene assay for N2 fixation: laboratory and field evaluation. **Plant Physiology**, Rockville, v. 43, n. 8, p. 1185–1207, 1968.

HARDY, R. W. F.; HAVELKA, U. D. Photosynthate as a major factor limiting nitrogen fixation by field-grown legumes with emphasis on soybeans. In: NUTMAN, P. S. (Ed.). **Symbiotic nitrogen fixation in plants**. Cambridge: Cambridge University Press, 1976. p. 421–439. (IBP, 7).

HERRIDGE, D. F.; BERGERSEN, F. J.; PEOPLES, M. B. Measurement of nitrogen fixation by soybean in the field using the ureide and natural 15N abundance methods. **Plant Physiology**, Rockville, v. 93, n. 2, p. 708–716, 1990.

HERRIDGE, D. F.; PEOPLES, M. B. Ureide assay for measuring nitrogen fixation by nodulated soybean calibrated by 15N methods. **Plant Physiology**, Rockville, v. 93, n. 2, p. 495–503, 1990.

HÖGBERG, P. Tansley Review No. 95 15N natural abundance in soil-plant systems. **New Phytologist**, London, v. 137, n. 2, p. 179–203, 1997.

HOGBERG, P.; ALEXANDER, I. J. Roles of root symbioses in African woodland and forest: evidence from ^15N abundance and foliar analysis. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 82, n. 2, p. 217–224, 1995.

HÖGBERG, P.; JOHANNISSON, C. 15N abundance of forests is correlated with losses of nitrogen. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 157, n. 1, p. 147–150, 1993.

HÖLSCHER, D. et al. Dynamic of soil chemical parameters in shifting agriculture in the Eastern Amazon. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 66, n. 2, p. 153–163, 1997.

HUNGATE, B. A. et al. Nitrogen and climate change. **Science**, Washington, DC, v. 302, n. 5650, p. 1512–1513, 2003.

HUNGRIA, M. et al. The Brazilian experience with the soybean (Glycine max) and common bean (*Phaseolus vulgaris*) symbioses. In: PEDROSA, F. O. et al. (Ed.). **Nitrogen fixation**: from molecules to crop productivity. Heidelberg: Springer, 2002. p. 515–518.

HUNGRIA, M.; NEVES, M. C. P. Partitioning of nitrogen from biological fixation and fertilizer in Phaseolus vulgaris. **Physiologia Plantarum**, Kobenhavn, v. 69, n. 1, p. 55–63, 1987.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N< sub> 2</sub> fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, n. 2, p. 151–164, 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Mapa de vegetação do Brasil**. Rio de Janeiro, 1993.

IVANAUSKAS, N. M.; MONTEIRO, R.; RODRIGUES, R. R. Structure of patch of Amazonian Forest in the alto rio Xingu Basin. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34, n. 2, p. 275–299, jan. 2004.

IVANAUSKAS, N. M.; MONTEIRO, R.; RODRIGUES, R. R. Classificação fitogeográfica das florestas do Alto Rio Xingu. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 38, n. 3, p. 387–402, 2008.

KAREIVA, P. et al. Domesticated Nature: Shaping Landscapes and Ecosystems for Human Welfare. **Science**, Washington, DC, v. 316, n. 5833, p. 1866–1869, 7 jun. 2007.

KAUFFMAN, J. B. et al. Fire in the Brazilian Amazon: 1. Biomass, nutrient pools, and losses in slashed primary forests. **Oecologia**, Berlin, v. 104, n. 4, p. 397–408, 1995.

KESSEL, C. VAN; HARTLEY, C. Agricultural management of grain legumes: has it led to an increase in nitrogen fixation? **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, n. 2–3, p. 165–181, mar. 2000.

MACEDO, M. N. et al. Decoupling of deforestation and soy production in the southern Amazon during the late 2000s. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, Washington, DC, v. 109, n. 4, p. 1341–1346, 2012.

MACEDO, M.C.M.; MIRANDA, C.H.B. Fixação de nitrogênio pela soja em sistemas de cultivo contínuo e rotacionado com pecuária nos cerrados. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento,** Embrapa, nº 14, Campo Grande MS, 2001

MAGUE, T. H.; BURRIS, R. H. Reduction of acetylene and nitrogen by field-grown soybeans. **New Phytologist**, London, v. 71, n. 2, p. 275–286, 2006.

MARQUELLI, R. P. **O desenvolvimento sustentável da agricultura no Cerrado Brasileiro**. Brasília, DF: ISEA-FGV/Ecobusiness School, 2003.

MATSON, P. A. et al. Nitrogen Transformations Following Tropical Forest Felling and Burning on a Volcanic Soil. **Ecology**, Brooklyn, v. 68, n. 3, p. 491, jun. 1987.

McKEY, D. Legumes and nitrogen: the evolutionary ecology of a nitrogen-demanding lifestyle. In: SPRENT, J. M.; McKEY, D. (Ed.). **Advances in legume systematics**: the nitrogen factor. Kew: Royal Botanic Gardens, 1994. p.b211-228.

MELILLO, J. et al. Nitrous oxide emissions from forests and pastures of various ages in the Brazilian Amazon. **Journal of Geophysical Research. Atmospheres**, Washington, DC, v. 106, p. 34, 2001.

MORTON, D. C. et al. Cropland expansion changes deforestation dynamics in the southern Brazilian Amazon. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, Washington, DC, v. 103, n. 39, p. 14637–14641, 26 set. 2006.

MOTAVALLI, P. P. et al. Soil pH and organic C dynamics in tropical forest soils: evidence from laboratory and simulation studies. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 27, n. 12, p. 1589–1599, 1995.

MURTY, D. et al. Does conversion of forest to agricultural land change soil carbon and nitrogen? A review of the literature. **Global Change Biology**, Oxford, v. 8, n. 2, p. 105–123, 2002.

NARDOTO, G. B. et al. Understanding the influences of spatial patterns on N availability within the Brazilian Amazon forest. **Ecosystems**, New York, v. 11, n. 8, p. 1234–1246, 2008.

NAYLOR, R. et al. Losing the Links Between Livestock and Land. **Science**, Washington, DC, v. 310, n. 5754, p. 1621–1622, 12 set. 2005.

NEILL, C. et al. Soil carbon and nitrogen stocks following forest clearing for pasture in the southwestern Brazilian Amazon. **Ecological Applications**, Washington, DC, v. 7, n. 4, p. 1216–1225, 1997.

NEPSTAD, D. C.; STICKLER, C. M.; ALMEIDA, O. T. Globalization of the Amazon soy and beef industries: opportunities for conservation. **Conservation Biology**, Cambridge, v. 20, n. 6, p. 1595–1603, 2006.

OELMANN, Y. et al. Nitrate leaching in soil: Tracing the NO3− sources with the help of stable N and O isotopes. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 39, n. 12, p. 3024–3033, dez. 2007.

PETERSON, R. B.; BURRIS, R. H. Conversion of acetylene reduction rates to nitrogen fixation rates in natural populations of blue-green algae. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 73, n. 2, p. 404–410, 1976.

PICCOLO, M. C.; NEILL, C.; CERRI, C. C. Net nitrogen mineralization and net nitrification along a tropical forest-to-pasture chronosequence. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 162, n. 1, p. 61–70, 1994.

RABALAIS, N. N. Nitrogen in aquatic ecosystems. **Ambio: A Journal of the Human Environment**, Stockholm, v. 31, n. 2, p. 102–112, 2002.

REINERS, W. A. et al. Tropical rain forest conversion to pasture: changes in vegetation and soil properties. **Ecological Applications**, Washington, DC, v. 4, n. 2, p. 363–377, 1994.

RISKIN, S. **The hydrological and biogeochemical consequences of conversion to soybean cultivation on the Amazonian agricultural frontier**. 2012. Ph. D. Thesis Brown University, Providence, RI, 2012

ROGGY, J. C. et al. Nitrogen cycling in the tropical rain forest of French Guiana: comparison of two sites with contrasting soil types using δ15N. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v. 15, n. 01, p. 1–22, 1999.

SALTON, J. C.; MIELNICZUK, J. Relações entre sistema de preparo, temperatura e umidade de um podzólico vermelho-escuro de Eldorado do Sul (RS). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 19, n. 2, p. 313–319, 1995.

SANO, E. E. et al. Land cover mapping of the tropical savanna region in Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, Dordrecht, v. 166, n. 1-4, p. 113–124, 1 jul. 2010.

SANTOS, D. R.; GATIBONI, L. C.; KAMINSKI, J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, 2008.

SCHEFFLER, R. et al. Soil hydraulic response to land-use change associated with the recent soybean expansion at the Amazon agricultural frontier. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 144, n. 1, p. 281–289, 2011.

SHAVER, T. M. et al. Surface soil physical properties after twelve years of dryland no-till management. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 66, n. 4, p. 1296–1303, 2002.

SHEARER, G.; KOHL, D. N2-Fixation in Field Settings: Estimations Based on Natural 15N Abundance. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 13, n. 6, p. 699–756, 1 jan. 1986.

SIX, J. et al. Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils–Effects of no-tillage. **Agronomie - Sciences des Productions Vegetales et de l'Environnement**, Paris, v. 22, n. 7-8, p. 755–776, 2002.

SIX, J.; ELLIOTT, E. T.; PAUSTIAN, K. Aggregate and soil organic matter dynamics under conventional and no-tillage systems. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 63, n. 5, p. 1350–1358, 1999.

SIX, J.; ELLIOTT, E. T.; PAUSTIAN, K. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 14, p. 2099–2103, 2000.

SMALING, E. M. A. et al. From forest to waste: Assessment of the Brazilian soybean chain, using nitrogen as a marker. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 128, n. 3, p. 185–197, 2008.

SOUZA, L. A. G. DE; SILVA, M. F.; MOREIRA, F. W. Capacidade de nodulação de cem leguminosas da Amazônia. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 24, n. 1-2, p. 9–18, 1994.

SPEHAR, C. R. Impact of strategic genes in soybean on agricultural development in the Brazilian tropical savannahs. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 41, n. 3, p. 141–146, jun. 1995.

SPRENT, J. I.; THOMAS, R. J. Nitrogen nutrition of seedling grain legumes: some taxonomic, morphological and physiological constraints. **Plant, Cell & Environment**, Nottingham, v. 7, n. 9, p. 637–645, 1984.

STEFFEN, W. L. et al. **Global change and the earth system**: a planet under pressure. Heidelberg: Springer, 2005.

SYERS, J. K.; JOHNSTON, A. E.; CURTIN, D. **Efficiency of soil and fertilizer phosphorus use**: reconciling changing concepts of soil phosphorus behavior with agronomic information. Rome: FAO, 2008.

TREBS, I. et al. Dry and wet deposition of inorganic nitrogen compounds to a tropical pasture site (Rondônia, Brazil). **Atmospheric Chemistry and Physics**, Munich, v. 6, n. 2, p. 447–469, fev. 2006.

VALADÃO JÚNIOR, D. D. et al. Adubação fosfatada na cultura da soja em Rondônia. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 9, n. 3, p. 369–375, 2008.

VERA-DIAZ, M. DEL C. et al. An interdisciplinary model of soybean yield in the Amazon Basin: The climatic, edaphic, and economic determinants. **Ecological Economics**, Amsterdam, v. 65, n. 2, p. 420–431, 2008.

VITOUSEK, P. M. et al. Nitrate losses from disturbed ecosystems. **Science**, Washington, DC, v. 204, n. 4392, p. 469–474, 1979.

VITOUSEK, P. M. et al. Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences. **Ecological applications**, Washington, DC, v. 7, n. 3, p. 737–750, 1997.

VITOUSEK, P. M. et al. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 57, n. 1, p. 1–45, 2002.

VITOUSEK, P. M.; HOWARTH, R. W. Nitrogen limitation on land and in the sea: how can it occur. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 13, p. 87–115, 1991.

WHEATLEY, D. M.; MACLEOD, D. A.; JESSOP, R. S. Influence of tillage treatments on N2 fixation of soybean. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 27, n. 4–5, p. 571–574, abr. 1995.

WILLIAMS, M. R.; FISHER, T. R.; MELACK, J. M. Chemical composition and deposition of rain in the central Amazon, Brazil. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 31, n. 2, p. 207–217, 1997.

WILSON, P. W. **The biochemistry of symbiotic nitrogen fixation**. Madison: The University of Wisconsin Press, 1940.

YONEYAMA, T. et al. Natural abundance of 15 N in tropical plants with emphasis on tree legumes. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 153, n. 2, p. 295–304, 1993.

ZOTARELLI, L. **Balanço de nitrogênio na rotação de culturas em sistema de plantio direto e convencional na região de Londrina-PR**, 2000. 128 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2000.

APÊNDICE

Apêndice A – Lista de espécies coletadas na área de floresta

Nome científico	**Família**	**$\delta^{13}C$**	**C(%)**	**$\delta^{15}N$**	**N(%)**	**C/N**
Pouteria ramiflora (Mart.) Radlk	Sapotaceae	-31,22	50,60	2,01	1,56	32,49
Xylopia amazonica R.E.Fries	Annonaceae	-30,87	50,38	1,01	2,39	21,11
Xylopia amazonica R.E.Fries	Annonaceae	-31,11	50,93	0,83	2,13	23,89
Dacryodes microcarpa Cuart.		-30,60	46,37	3,82	1,57	29,46
Simaruba amara Aubl.	Simarubaceae	-31,01	50,04	4,17	1,55	32,19
Sacoglottis guianensis Benth. Var. guianensis	Humiriaceae	-32,31	48,44	1,89	1,07	45,46
Aspidosperma excelsum Benth.	Apocynaceae	-28,42	54,40	3,29	1,93	28,18
Protium guianense (Aublet) Marchand ssp. Pilosissimo (Engl) Daly	Burseraceae	-28,29	46,79	2,53	2,09	22,34
Ocotea acutangula Mez.	Lauraceae	-30,67	53,86	0,90	2,10	25,65
Trattinnickia rhoifolia Willd.	Burseraceae	-29,89	48,99	2,29	1,88	26,01
Ocotea guianensis Aubl.	Lauraceae	-28,98	50,64	1,33	1,53	33,13
		-33,97	48,56	2,85	1,94	24,98
Protium guianense (Aublet) Marchand ssp. Pilosissimo (Engl) Daly	Burseraceae	-33,31	47,46	1,18	2,11	22,52
Aspidosperma excelsum Benth.	Apocynaceae	-28,35	53,22	3,28	1,55	34,25
Ocotea guianensis Aubl.	Lauraceae	-31,22	50,51	1,00	1,72	29,33
		-30,50	47,62	1,85	2,32	20,51
Trattinnickia rhoifolia Willd.	Burseraceae	-28,56	48,36	2,83	1,88	25,79
Pouteria ramiflora (Mart.) Radlk	Sapotaceae	-32,20	51,50	2,26	2,30	22,41
Aspidosperma excelsum Benth.	Apocynaceae	-25,45	53,44	2,32	1,96	27,24
Aspidosperma excelsum Benth.	Apocynaceae	-28,55	52,92	3,11	2,37	22,32
Trattinnickia rhoifolia Willd.	Burseraceae	-30,30	47,66	2,85	2,21	21,53
Tapirira guianensis Aubl.	Anacardiacea	-29,49	46,25	4,01	1,81	25,57
Aspidosperma excelsum Benth.	Apocynaceae	-28,22	52,27	2,71	2,15	24,29
Xylopia amazonica R.E.Fries	Annonaceae	-29,14	51,05	1,27	2,13	24,02
Jacaranda copaia (Aubl.) D. Don	Bignoniaceae	-26,88	53,08	1,41	3,90	13,62
Ocotea acutangula Mez.	Lauraceae	-28,20	52,07	2,73	2,94	17,73
Dacryodes microcarpa Cuart.	Burseraceae	-30,07	48,29	1,32	2,15	22,50
Ocotea guianensis Aubl.	Lauraceae	-30,90	48,61	1,64	1,46	33,28
Jacaranda copaia (Aubl.) D. Don	Bignoniaceae	-29,92	52,42	2,22	3,82	13,73
Aspidosperma excelsum Benth.	Apocynaceae	-26,47	53,64	3,76	2,53	21,24
Trattinnickia glaziovii Swart.	Burseraceae	-29,83	48,89	1,94	2,01	24,38
Xylopia amazonica R.E.Fries	Annonaceae	-28,22	51,95	1,16	2,19	23,75
Enterolobium schomburgkii (Benth.) Benth.	Mimosoideae	-31,31	48,88	1,55	2,87	17,01
Enterolobium schomburgkii (Benth.) Benth.	Mimosoideae	-29,52	50,69	2,68	2,67	18,96
Enterolobium schomburgkii (Benth.)	Mimosoideae	-32,23	51,35	5,30	2,85	18,04

Apêndice B – Descrição esquemática dos procedimentos amostrais

Área	Material coletado	Análises	Número de amostras	Data de coleta
Pastagem	Solos (0-10cm)	$\delta^{15}N$, $\delta^{13}C$, %N, %C, granulometria	05	Agosto de 2008
Soja 6 anos	Solos (0-10, 10-20, 40-50, 90-100, 190-200cm de profundidade)	granulometria, $\delta^{15}N$, $\delta^{13}C$, %N, %C, fertilidade, concentrações de N–NO_3^- e N–NH_4^+, densidade	07 amostras por camada de solo	26/01/2009 a 20/02/2009
	Vegetação	$\delta^{15}N$, $\delta^{13}C$, %N, %C	05 indivíduos de soja e 05 espécies espontâneas	Fevereiro de 2009
Soja 5 anos	Solos (0-10, 10-20, 40-50, 90-100, 190-200cm de profundidade)	granulometria, fertilidade, $\delta^{15}N$, $\delta^{13}C$, %N, %C, concentrações de N–NO_3^- e N–NH_4^+, densidade	07 amostras por camada de solo	26/01/2009 a 20/02/2009
	Solos (0-10, 10-20, 40-50, 90-100, 190-200, 290-300, 390-400, 490-500 cm de profundidade)	concentrações de nitrato (N–NO_3^-) e amônio (N–NH_4^+)	03 trincheiras, totalizando 03 amostras por camada de solo	Fevereiro de 2009
Soja 2 anos	Solos (0-10, 10-20, 40-50, 90-100, 190-200cm de profundidade)	granulometria, fertilidade, $\delta^{15}N$, $\delta^{13}C$, %N, %C, concentrações de N–NO_3^- e N–NH_4^+, densidade	07 amostras por camada de solo	26/01/2009 a 20/02/2009
	Parcelas para estimativa de biomassa total	Peso seco de parte aérea e raízes	3 parcelas de $3m^2$	Fevereiro de 2009
Soja 1 ano	Solos (0-10, 10-20, 40-50, 90-100, 190-200cm de profundidade)	granulometria, fertilidade, $\delta^{15}N$, $\delta^{13}C$, %N, %C, concentrações de N–NO_3^- e N–NH_4^+, densidade	07 amostras por camada de solo	26/01/2009 a 20/02/2009
	Vegetação	$\delta^{15}N$, $\delta^{13}C$, %N, %C	05 indivíduos de soja e 05 espécies espontâneas	Fevereiro de 2009