



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CAROLINA HONDA

**PROPRIEDADES MICROBIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DO
SOLO NA DINÂMICA DO NITROGÊNIO NO SISTEMA DE
PRODUÇÃO DE SOJA EM SUCESSÃO AO TRIGO**

Londrina
2016

CAROLINA HONDA

**PROPRIEDADES MICROBIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DO
SOLO NA DINÂMICA DO NITROGÊNIO NO SISTEMA DE
PRODUÇÃO DE SOJA EM SUCESSÃO AO TRIGO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientador: Dr. Marco Antonio Nogueira

Co-orientador: Dr. André S. Nakatani

Londrina
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Honda, Carolina.

Propriedades microbiológicas e bioquímicas do solo na dinâmica do nitrogênio no sistema de produção de soja em sucessão ao trigo / Carolina Honda. - Londrina, 2016. 74 f.

Orientador: Marco Antonio Nogueira.

Coorientador: André Shigueyoshi Nakatani.

Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, 2016.

Inclui bibliografia.

1. Biomassa microbiana - Tese. 2. Taxa de nitrificação - Tese. 3. Sucessão de culturas - Tese. 4. Adubação Nitrogenada - Tese. I. Nogueira, Marco Antonio . II. Nakatani, André Shigueyoshi. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia. IV. Título.

CAROLINA HONDA

**PROPRIEDADES MICROBIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DO
SOLO NA DINÂMICA DO NITROGÊNIO NO SISTEMA DE
PRODUÇÃO DE SOJA EM SUCESSÃO AO TRIGO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Pr. Dr. Marco Antonio Nogueira
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária -
Embrapa Soja

Profa. Dra. Dáfila S. de Lima Fagotti
CNPq/Embrapa Soja

Profa. Dra. Adriana Pereira da Silva
PNPD-CAPES/UUEL

Londrina, 16 de setembro de 2016.

Dedico
Aos meus pais

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira que aceitou ser meu orientador e que proporcionou para que eu conseguisse realizar a elaboração da presente dissertação. A sua orientação, as suas recomendações, a grande atenção, foram importantes para o meu crescimento. Fica minha profunda gratidão, admiração e respeito.

À Dra. Mariangela Hungria (Chefa) que sempre está se preocupando com todos nós, incentivando e ajudando todos a ir muito mais além. Também pelas oportunidades dos encontros fora do ambiente de trabalho, os quais permitiram aproximação com os colegas de trabalho que tornaram grandes amigos.

Aos meus pais que sempre me apoiaram e cuidaram para que eu chegasse onde estou hoje.

À Caroline Apolinário que sempre esteve do meu lado desde a graduação. São muito momentos alegres de carinho e companheirismo.

À Lully e a Rebeca que me inspiram muito por serem mulheres fortes e disciplinadas. Acompanhar a vida social e ver o grande empenho com o trabalho, me fez pensar e refletir muito sobre meu comportamento.

A todos os amigos do laboratório que estiveram presentes até o final desse trabalho e principalmente aqueles que eu perseguia para me ajudar e tirar dúvidas. Também aos que proporcionaram o ambiente de trabalho um lugar mais alegre e divertido.

Por fim:

À CAPES pela concessão da bolsa no início do mestrado.

À Embrapa Soja pelo desenvolvimento do projeto.

HONDA, Carolina. **Propriedades microbiológicas e bioquímicas do solo na dinâmica do nitrogênio no sistema de produção de soja em sucessão ao trigo.** 2016. 74 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

RESUMO

A soja é a principal cultura de verão no Brasil, sendo cultivada em sucessão à cultura do trigo, especialmente no Estado do Paraná e Rio Grande do Sul. A principal fonte de N para a cultura da soja é a fixação biológica de nitrogênio, enquanto que para o trigo, é a adubação nitrogenada e a mineralização da matéria orgânica do solo. A calagem influencia a dinâmica do carbono, nutrientes e outros elementos no solo, podendo também influenciar no ciclo do N. Há relatos de que a adubação nitrogenada aplicada à cultura do trigo pode influenciar na produtividade da cultura cultivada em sucessão. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da calagem e da adubação nitrogenada em dois genótipos de trigo (CD-150, responsivo e BRS Galha Azul, pouco responsivo ao N) sobre atributos relativos à dinâmica do N no solo no sistema de produção soja/trigo em sucessão. O experimento foi conduzido a campo em Londrina-PR, durante a safra 2014/15 com delineamento em blocos casualizados em parcelas subdivididas, com realização ou não de calagem e aplicação de doses de N em cobertura (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ de N como nitrato de amônio). No verão, foi realizada a semeadura da soja (BRS 360 RR) sobre as mesmas parcelas. Amostras de solo foram obtidas em três épocas, quais sejam: durante o cultivo do trigo, na entressafra e durante o cultivo da soja, em três profundidades (0-10, 10-20 e 20-40 cm) e submetidas a análises químicas, bioquímicas e microbiológicas. O trigo foi avaliado quanto à produção de palhada, teor de N na palhada e produtividade. A soja foi avaliada no florescimento quanto ao teor de N foliar, nodulação, massa de parte aérea seca e produtividade ao final do ciclo. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de médias (Tukey, $p \leq 0,05$), considerando cada genótipo de trigo como um ensaio. A adubação nitrogenada na cultura do trigo aumentou o teor de nitrogênio nas plantas de soja em sucessão, mas sem resultar em aumento de massa de matéria seca e produtividade de grãos. Já a calagem aumentou a produtividade das duas culturas e, em geral, aumentou a atividade microbiológica e bioquímica na camada 0-10 cm.

Palavras-chave: adubação nitrogenada; calagem; atividade microbiana; ciclo do nitrogênio; produtividade de grãos.

HONDA, Carolina. **Soil microbial and biochemical properties on the nitrogen dynamics in a soybean-wheat succession system**. 2016. 74 p. Dissertation (Master's Degree in Microbiology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

ABSTRACT

Soybean is the main summer crop in Brazil, and is cultivated in succession with wheat, especially in the States of Paraná and Rio Grande do Sul. The biological nitrogen fixation process with *Bradyrhizobium* is the main source of N to the soybean crop, whereas N fertilizers and the mineralization of the soil organic matter are the main sources of N to wheat. Liming affects the dynamics of carbon, nutrients and other elements in the soil, including the N cycling. There are reports that N fertilizers applied to the wheat crop may affect the soybean yield cropped in succession. The aim of this work was evaluate the effects of liming and N-fertilization of two wheat genotypes (CD-150, responsive and BRS Gralha Azul, non-responsive to N) on traits related to the dynamics of N in soil in a soybean/wheat succession crop system. The field trial was carried out in Londrina-PR during the 2014/15 cropping season under a randomized blocks design, in a split-plot arrangement. The main plot was liming or not, and topdress application of mineral N in the subplots (0, 40, 80 of 120 kg ha⁻¹ of N as ammonium nitrate). During the summer, soybean (BRS 360 RR) was grown on the same plots and subplots. Three soil samplings (0-10, 10-20, 20-40 cm) were performed (flowering of wheat, off season, and flowering of soybean) and submitted to chemical, biochemical and microbiological analysis. Wheat straw biomass was sampled after harvest for assessment of N concentrations. Soybean was assessed for nodulation, biomass and N concentration in leaves at the flowering. The grain yield was also assessed for both crops. The dataset was submitted to analysis of variance and means comparison (Tukey, $p \leq 0.05$), considering each wheat genotype as a trial. The N fertilization applied to the wheat preceding the soybean increased the N concentration in soybean, but did not affect grain yield. Liming increased yields for wheat and soybean crops and in general increased the microbiological and biochemical activities at 0-10 cm of soil depth.

Keywords: N-fertilization; liming; microbial activity; N-cycling; gain yield.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1	SISTEMA DE SUCESSÃO SOJA/TRIGO.....	11
2.2	CICLO BIOGEOQUÍMICO DO N	12
2.3	COMPARTIMENTOS DE N NO SOLO	14
2.4	TRANSFORMAÇÕES MICROBIANAS DO N COMO INDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO	16
2.5	NITROGÊNIO NO TRIGO E NA SOJA.....	17
2.6	FATORES QUE AFETAM A DINÂMICA DO N NO SOLO.....	18
3	MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1	CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA (CRA)	23
3.2	DETERMINAÇÃO DA UMIDADE DO SOLO	23
3.3	TAXA DE NITRIFICAÇÃO	23
3.4	RESPIRAÇÃO BASAL DO SOLO	24
3.5	DESIDROGENASE	24
3.6	CELULASE	25
3.7	L-GLUTAMINASE.....	25
3.8	BIOMASSA MICROBIANA	25
3.9	CARBONO ORGÂNICO TOTAL	26
3.10	NITROGÊNIO TOTAL	26
3.11	TEOR DE NITROGÊNIO NA PARTE AÉREA DA SOJA E NA PALHADA DO TRIGO	26
3.12	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	27
4	RESULTADOS	28
4.1	EFEITO NAS CULTURAS.....	28
4.1.1	Trigo	28
4.1.2	Soja.....	30
4.2	BIOMASSA MICROBIANA	32
4.2.1	Carbono da Biomassa Microbiana (CBM).....	32
4.2.2	Nitrogênio da Biomassa Microbiana (NBM)	35

4.3	TAXA DE AMONIFICAÇÃO	37
4.4	TAXA DE NITRIFICAÇÃO	39
4.5	ENZIMAS	41
4.5.1	Celulase	41
4.5.2	Desidrogenase	43
4.5.3	L-glutaminase	45
4.6	CARBONO ORGÂNICO TOTAL (COT).....	47
4.7	NITROGÊNIO TOTAL (NT)	50
4.8	RESPIRAÇÃO BASAL	53
4.9	QUOCIENTE METABÓLICO	55
4.10	ANÁLISE MULTIVARIADA.....	57
5	DISCUSSÃO	62
6	CONCLUSÕES	68
	REFERÊNCIAS	69

1. INTRODUÇÃO

As culturas de trigo (*Triticum aestivum* L.) e soja (*Glycine max* L.) possuem alta demanda por nitrogênio (N), que é elemento exigido em maior quantidade para o desenvolvimento das plantas. Ele está presente em processos metabólicos e bioquímicos, e constitui diversas moléculas essenciais à vida.

Para que o N possa ser absorvido pelos organismos em um ambiente, ele passa por transformações envolvendo processos de oxirredução que o converte em moléculas assimiláveis por plantas e microrganismos. Assim, o N amoniacal que surge após a mineralização de formas orgânicas sofre nitrificação pelos organismos quimiolitotróficos, formando o N nítrico. No solo, o íon amônio permanece adsorvido às partículas do solo por ter carga positiva. Já o nitrato predomina na solução do solo e pode ser facilmente perdido por lixiviação. O nitrato também está sujeito a perdas na forma de gases, pois em ambientes com baixa concentração de oxigênio, organismos quimiorganotróficos realizam a desnitrificação. Outro fenômeno é a imobilização do N em que principalmente os microrganismos e as plantas assimilam N mineral para suprir suas necessidades metabólicas para a formação de macromoléculas.

Esses processos são influenciados pelas condições físicas, químicas e microbiológicas do solo. A mineralização de formas orgânicas de N é influenciada principalmente pela temperatura, umidade e pH do solo. Solos pobres em cobertura, sobretudo a palhada em sistemas de produção em semeadura direta, apresentam aumento da temperatura e diminuição da umidade, o que diminui a atividade biológica. Já a nitrificação é favorecida pelo aumento do pH resultante da calagem, que em contrapartida leva à acidificação do solo pela liberação de H^+ , o que é prejudicial ao próprio processo. O excesso de água ou a compactação do solo levam à restrição de oxigenação, o que faz com que alguns microrganismos realizem respiração anaeróbica, em que substâncias oxidadas como o nitrato são usadas como receptor final de elétrons em substituição ao O_2 na respiração anaeróbica, o que leva à desnitrificação, cujos produtos finais são gases do efeito estufa.

O ciclo do N é bastante dinâmico e precisa ser adequadamente manejado para amenizar perdas econômicas e danos ambientais. Diferentes sistemas de manejo do solo acabam por interferir na atividade microbiológica, com consequências sobre o ciclo do N. Assim, os monitoramentos de

processos microbiológicos envolvidos nas transformações do N podem ser usados como indicadores da dinâmica do N em sistemas de produção.

A sucessão soja-trigo em sistema de semeadura direta é uma prática comumente adotada no sul do Brasil. O cultivo de trigo no inverno precedendo a cultura da soja é uma opção para o manejo de plantas invasoras e também permite a cobertura de solo para a realização de semeadura direta da cultura de verão. Esse dueto tem sido adotado por décadas, mas alguns aspectos ainda precisam ser melhor investigados. Por exemplo, sabe-se que a soja cultivada após trigo que recebeu adubação nitrogenada no inverno geralmente apresenta maior produtividade. Não se sabe se esse é um efeito direto da adubação nitrogenada ou se é devido ao estímulo à produção de biomassa pela cultura do trigo, que pode melhorar as condições do sistema de cultivo. Além disso, cultivares de trigo apresentam diferentes respostas ao N aplicado na adubação, o que poderia interferir na dinâmica do N no sistema de produção, com reflexos na cultura da soja cultivada em sucessão. Outro aspecto que pode influenciar na resposta das culturas é a calagem. Para não interferir no equilíbrio do sistema de plantio direto, aplicação de calcário é realizada em superfície, sem incorporação, o que pode interferir na dinâmica de nutrientes naquele ambiente, em particular o N.

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da calagem superficial e da adubação nitrogenada em dois genótipos de trigo (responsivo e pouco responsivo ao N), sobre atributos microbiológicos e bioquímicos que possam alterar a dinâmica do N e do C no solo no sistema de produção soja/trigo em sucessão.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sistema de sucessão soja/trigo

O Estado do Paraná foi marcado pela grande geada de 1975 que devastou áreas produtoras de café. Isso levou os agricultores a reduzirem consideravelmente essa cultura e buscar alternativas de produção como as culturas do trigo e da soja. Na década de 1950 o trigo começou a ser cultivado em áreas de maior altitude no sul do estado, mas com a falta de conhecimento sobre o manejo não houve bom desempenho da cultura, resultando em baixa produtividade. A cultura do trigo é bastante influenciada pelo clima e pelo solo, o que demanda estudos com o objetivo de melhorar e aprimorar seu sistema de produção. A otimização da produção de trigo requer boas condições químicas, físicas e biológicas do solo, com adubação e manejo adequados. Recentemente a inoculação com micro-organismos benéficos, notadamente *Azospirillum brasilense* passou a ser também recomendada para a cultura (LIMA et al., 2009).

Embora seja uma cultura de inverno, o trigo é sensível à ocorrência de geadas durante sua fase reprodutiva, portanto deve-se atentar para as condições climáticas de cada região. O Estado do Paraná apresenta uma das melhores condições para o cultivo do trigo no Brasil, sendo o principal produtor (CUNHA et al., 2001). No país, o trigo é utilizado como matéria prima para consumo da população na forma de farinha e pães, mas também é empregado na produção de ração (CONAB, 2014). Como o país não é autossuficiente, parte da demanda é importada principalmente da Argentina e Canadá. É uma cultura que demanda cuidados fitossanitários e nutricionais, em especial o N (SILVA et al., 2008).

A soja foi introduzida no Paraná em meados da década de 50 no sul do Estado, como alternativa de controlar plantas daninhas em áreas de arroz de sequeiro. Com o prejuízo na cultura do café causado pelas grandes geadas de 1953 e 1955, os agricultores abriram espaço para seu cultivo (PIPOLO et al., 2015). Atualmente, a soja é a cultura de grãos mais produzida no país e sua produção visa a exportação, uso para ração, nutrição humana por meio de vários produtos que compõe, na produção de biodiesel, entre outros usos (CONAB, 2014). No Paraná, a soja é a principal cultura de verão, tendo no Estado uma vantagem logística quanto ao transporte de grãos para exportação pela proximidade do litoral (ZOTARELLI; LUGNANI, 2001). No ano de 2014, apesar do atraso na época de semeadura devido à falta de chuvas, houve aumento nas áreas de plantio

(CONAB, 2014). Essas áreas, especialmente na região sul, em grande parte são cultivadas com trigo em sucessão, em opção ao milho de segunda safra. A proporção entre uma e outra cultura depende do mercado, mas há agricultores que optam por cultivar trigo mesmo sob condições econômicas desfavoráveis porque a cultura contribui para deixar a área mais apropriada para a instalação cultura da soja, sobretudo pela melhor cobertura do solo para realização da semeadura direta, além de auxiliar no controle de importantes espécies invasoras como a buva (*Conyza bonariensis*) e o capim amargoso (*Digitaria insularis*). A sucessão ajuda ainda a diminuir a incidência de pragas e doenças nas culturas (FIDELIS et al., 2003). Dentre as tecnologias do sistema de produção de soja, o uso de inoculantes contribui para alta produção da cultura sem a dependência de fertilizantes nitrogenados (BASHAN et al., 2014). Há também a disponibilização de parte do N fixado biologicamente para a cultura cultivada em sucessão, como o milho ou o trigo.

O uso de fertilizantes nitrogenados na agricultura requer conhecimentos sobre a época da aplicação, quantidades adequadas (THEAGO et al., 2014) e a resposta das culturas ao nutriente. Recomenda-se que a adubação do trigo seja realizada logo após a emergência, entre o início do afilhamento (estádio V3) e início do alongamento (estádio V6) (REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 2013). A adubação nitrogenada de cobertura precisa ser criteriosa, pois aplicações em excesso levam a um baixo aproveitamento pelas plantas que resulta perdas para o ambiente. Uma aplicação eficiente diminui as chances de perdas e permite que parte do N seja incorporado à biomassa das plantas. O remanescente que não for exportado pelas colheitas pode vir a ser reciclado no sistema de produção e disponibilizado para a cultura posterior, no caso a soja, após a mineralização dos restos culturais (THEAGO et al., 2014).

2.2 Ciclo biogeoquímico do N

O N encontra-se em diversas formas na natureza, desde orgânicas, constituindo aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, a formas minerais em vários níveis de oxidação, algumas das quais gasosas (PARTON et al., 1987), sendo o nutriente de maior dinâmica biogeoquímica. O N passa por vários processos químicos e biológicos que influenciam a sua dinâmica no ambiente. Os microrganismos organotróficos fazem parte desse processo, participando das transformações da matéria orgânica, a qual representa um importante estoque de N no solo (ROBERTSON;

GROFFMAN, 2007). No ambiente é o nutriente que mais passa por transformações bioquímicas de oxidação-redução, resultando em uma dinâmica complexa, de ciclo fechado, ou seja, passando pela atmosfera, litosfera e biosfera.

O N entra no ciclo por vários processos. Alguns procariotos são capazes de fixar N biologicamente em um processo denominado fixação biológica de nitrogênio (FBN) realizado por bactérias diazotróficas (HUNGRIA et al., 2013), as quais possuem um complexo enzimático, a nitrogenase, que quebra a tripla ligação do N_2 (ARAÚJO; MONTEIRO, 2007), que em seguida é reduzido a NH_3 , e finalmente assume a forma iônica amoniacal, NH_4^+ . O N também pode ser fornecido via fertilizantes nitrogenados que podem ser de natureza nítrica (NO_3^-) ou amoniacal (NH_4^+) (WENDLING et al., 2007). Há ainda o N fixado eletroquimicamente na alta atmosfera, que atinge o solo na forma de nitrato por ocasião de precipitações pluviais, mas não contribui significativamente do ponto de vista agrônômico.

Estima-se que mais de 95% do N total do solo esteja contido na matéria orgânica. Após a mineralização realizada por microrganismos heterotróficos, parte do NH_4^+ produzido, por apresentar carga positiva, é atraída pelas cargas negativas dos colóides e fica adsorvido na matriz do solo. Entretanto, o NH_4^+ que está em equilíbrio na solução do solo é rapidamente convertido a nitrito (NO_2^-) e em seguida a nitrato (NO_3^-) por microrganismos quimiolitotróficos no processo de obtenção de energia, denominado nitrificação. Nesse processo estão envolvidas diversas enzimas, como a amônio oxigenase (gene *Amo*) (ERGUDER et al., 2009), amônio monooxigenase (gene *Aao*) e nitrito oxi-redutase (gene *Nxr*) que convertem o NH_4^+ a NH_2OH , a NO_2^- ou NO_2 , e por fim a NO_3^- (INOUE et al., 2014; BOER et al., 1995).

Por ser negativamente carregado, o NO_3^- sofre repulsão e fica livre na solução solo, podendo ser facilmente lixiviado pela água de chuva que escoar no perfil do solo, podendo até atingir lençóis freáticos ou rios, o que promove eutrofização. Durante a nitrificação, ocorre a liberação de prótons (H^+), o que constitui um dos processos naturais de acidificação do solo (BALOTA et al., 2013; BINI et al., 2014). Nesse caso, a calagem tem papel fundamental para reduzir a acidez e manter o solo em condições químicas adequadas para o desenvolvimento das plantas (ANGHINONI; CARVALHO; COSTA, 2013). Paradoxalmente, a calagem favorece a nitrificação, pois valores mais elevados de pH favorecem os microrganismos que participam desse processo (FAGOTTI et al., 2012), que incluem as bactérias autotróficas do gênero *Nitrosomonas*,

Nitrospiras e *Nitrosococcus*, e as bactérias e fungos heterotróficos capazes de oxidar amônia ou mineralizar o nitrogênio orgânico (HAYATSU; TAGO; SAITO, 2010).

Em ambientes com restrição de oxigênio, algumas bactérias heterotróficas que realizam respiração anaeróbica utilizam o NO_3^- como aceptor final na cadeia transportadora de elétrons (e^-) para gerar ATP e conseqüentemente ocorre a formação de gases, como óxido nítrico (NO), óxido nítrico (N_2O) e gás nitrogênio (N_2), formas que são perdidas para a atmosfera (ROBERTSON; GROFFMAN, 2007), sendo que as duas primeiras são gases do efeito estufa. Esse processo é conhecido como desnitrificação e se inicia após a redução do NO_3^- a NO_2^- , cujas enzimas participantes são nitrato redutase (genes *Nas*, *NarG*, *NapA* e *Euk-nr*). A partir do NO_2^- podem ocorrer dois processos. No primeiro, a nitrito redutase (gene *Nir*) forma o NO e na sequência a ação da óxido nítrico redutase (gene *NorB*) forma o N_2O e por fim a óxido nítrico redutase (gene *NosZ*) o converte em N_2 . O segundo processo conhecido é o anamox, em que a partir do NO se forma a N_2H_4 e pela hidroxilamina oxireductase (gene *Hao*) forma-se o N_2 . Essa etapa também pode ocorrer a partir do NH_4^+ , diferenciando-se da primeira etapa pela ação da enzima hidrazina hidrolase (gene *Hh*) (CANFIELD et al., 2010). O processo anamox é essencial para que não seja formado o N_2O , já que é gás contribuinte do efeito estufa.

Outro processo importante é a assimilação ou imobilização do N, em que os organismos convertem formas minerais a formas orgânicas para a produção de constituintes celulares. Essa forma de N posteriormente é reintegrada ao ciclo após a morte das células e sua mineralização pelos microrganismos decompositores.

2.3 Compartimentos de N no solo

A maior parte do N do solo está na forma imobilizada, ou seja, na biomassa de microrganismos, plantas, animais, mas principalmente na matéria orgânica do solo (MOS) (CUNHA et al., 2007). A MOS, por meio da mineralização intermediada por microrganismos tem o N-orgânico transformado a NH_4^+ , que posteriormente é convertido a NO_3^- , sendo ambas as formas assimiláveis pelas plantas. A amonificação ocorre a partir de enzimas extracelulares que atuam na quebra das ligações químicas das macromoléculas, transformando-as em estruturas menores (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). Os resíduos vegetais que atingem a superfície do solo apresentam na sua constituição principalmente celulose, hemicelulose e lignina em diferentes proporções e são

importantes substratos a serem convertidos pela comunidade microbiana em húmus (CORREIA et al., 2007). A velocidade de humificação desse material depende do grau de lignificação e da relação C/N do resíduo aportado (PEDRA, 2011).

A MOS é formada de ácidos fúlvicos, a fração mais lábil, ácidos húmicos e huminas, resultado da degradação e ressíntese microbiana a partir de resíduos orgânicos, cuja relação C/N é aproximadamente de 10/1. As formas menos recalcitrantes das frações da MOS são importantes fontes de C para a comunidade microbiana do solo, mas também são importantes fontes de N de mais fácil mineralização (CANELLAS et al., 2001).

A biomassa microbiana compreende células de organismos e microfauna, representando uma forma viva de C, N e outros nutrientes no solo. Imobiliza temporariamente vários nutrientes que constituem as células, atuando como um reservatório que impede perdas desses nutrientes e os disponibiliza às plantas após sua morte e mineralização. Essa imobilização temporária é de particular importância para o N, tendo em vista a dinâmica a que esse nutriente está sujeito, o que favorece perdas. A biomassa microbiana atua como indicadora do estado biológico do solo, que pode constituir entre 1 a 4% do C total e de 3 a 5% do N total (FERREIRA et al., 2007). A associação das plantas com os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) contribui para o aumento da biomassa microbiana no solo, estimulada pela própria massa micelial. Além disso, quando o fungo inicia a associação com as raízes das plantas, exsudatos são liberados no local, contribuindo para o aumento a atividade e biomassa microbiana na micorrizosfera (ANDRADE; SILVEIRA, 2004). Tanto a cultura do trigo quanto a da soja formam associações micorrízicas.

O aporte de resíduos orgânicos em solos agrícolas é uma importante fonte de C e nutrientes ao solo, que será usada pela comunidade microbiana para crescimento. Dessa forma, a cobertura vegetal em áreas sob plantio direto, por exemplo, é um importante meio de aporte de substrato para o crescimento microbiano (BINI et al., 2014). Além disso, a cobertura do solo também contribui para manter o ambiente mais homogêneo em termos de temperatura e umidade, o que é mais propício para a comunidade microbiana continuar atuando nos ciclos biogeoquímicos (BAYER et al., 2004; PEREZ et al. 2004; RANGEL; SILVA, 2007). Neste sentido, benefícios à comunidade microbiana pelo aporte de resíduos da cultura de inverno poderá beneficiar a cultura da soja no verão.

2.4 Transformações microbianas do N como indicadores de qualidade do solo

O ciclo biogeoquímico do N é em grande parte intermediado pela comunidade microbiana e por isso é influenciado pelo uso e manejo do solo. Os indicadores de qualidade do solo que estão relacionados à comunidade microbiana são influenciados por fatores químicos e físicos do ambiente (D'HOSE et al., 2014). O uso de produtos químicos no ambiente de produção agrícola pode também influenciar a comunidade microbiana e processos que realizam no solo (SCHUSTER; SCHRODER, 1990; FERREIRA, 2014). Atributos microbiológicos como a biomassa microbiana e a respiração basal do solo, geralmente estão correlacionadas com a quantidade de matéria orgânica (VANCE; BROOKS; JENKINSON, 1987). A atividade respiratória dos microrganismos do solo (ALEF, 1995) também pode trazer importantes informações para avaliar os efeitos do uso e manejo sobre a qualidade do solo. Já o N da biomassa microbiana é um importante reservatório de N que pode ser facilmente disponibilizado às plantas por meio da mineralização, sendo considerado um reservatório de N de fácil mobilização.

Outro importante atributo relativo à dinâmica do N no solo são as atividades enzimáticas envolvidas nas transformações do N (FAGOTTI et al., 2012; BALOTA et al., 2013), as quais podem ser empregadas como indicadores biológicos, pois são sensíveis às condições ambientais e assim auxiliam na tomada de decisão quanto ao uso e manejo do solo com maior sustentabilidade (FAGOTTI et al., 2012; BINI et al., 2014). As enzimas têm papel fundamental na aceleração das reações tanto fora quanto no interior das células. A desidrogenase é indicadora da atividade microbiana pois permite estimar o fluxo de elétrons decorrente da respiração e assim estimar a atividade microbiana (GARCIA et al., 1997). Enzimas como β -glucosidade e celulase são úteis na avaliação das transformações do C no solo, permitindo inferir sobre sua dinâmica. Já a urease, amidase, asparaginase e glutaminase são exemplos de enzimas que atuam na ciclagem do N, levando à mineralização de formas orgânicas. A avaliação dessas atividades permite inferir sobre o potencial do solo em fornecer N à comunidade vegetal e microbiana (FAGOTTI et al., 2012; BINI et al., 2014).

2.5 Nitrogênio no trigo e na soja

A adubação nitrogenada é importante para a produtividade de culturas que não se beneficiam da FBN. Por exemplo, os cereais são mais dependentes da adubação nitrogenada, pois embora haja alguma contribuição de processos biológicos no suprimento de N a essas culturas (HUNGRIA et al., 2013), esta ainda não é suficiente para suprir toda a demanda. Entretanto, o suprimento de N por fertilizantes químicos não é garantia de que todo o N fornecido será disponibilizado para a cultura. Parte desses N é perdida por processos como volatilização, lixiviação e desnitrificação, que chegam a contabilizar mais de 50% do N fornecido. Essas perdas, além de serem antieconômicas, também trazem problemas ambientais, como a contaminação de águas por nitrato e liberação de gases do efeito estufa para a atmosfera. Do N fornecido que foi assimilado pela cultura, parte ainda é exportada pelas colheitas, permanecendo no solo, na forma de resíduos vegetais, apenas parte do N inicialmente adicionado. O N aportado na cultura anterior, devido a diversas interferências e seu dinamismo, nem sempre será reaproveitado pela cultura em sucessão (ARAÚJO et al., 2004).

O trigo pode responder positivamente à adubação nitrogenada em termos de produtividade. Porém a resposta pode sofrer interferência das condições climáticas (ROS et al., 2003), seja por estiagem, seja por excesso de chuvas, em que o N pode ser perdido por lixiviação. A adubação nitrogenada aplicada à cultura do trigo em duas etapas, parte na semeadura e parte em cobertura na fase vegetativa, contribui para aumentar a eficiência de uso do fertilizante, para que fique menos exposto a perdas por volatilização, desnitrificação ou lixiviação (ROS et al., 2003). Entretanto, a resposta da cultura do trigo à adubação nitrogenada, sobretudo em áreas sob sistema de semeadura direta já consolidada, ou seja, há mais de 5 anos (FOLONI; BASSOI, 2015), em que melhorias nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo já são evidenciadas, nem sempre é consistente.

No caso da cultura da soja, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) é um processo pelo qual a planta obtém o N_2 atmosférico que é reduzido a NH_3 , podendo ser transferido para compostos contendo carbono, a fim de produzir aminoácidos e outras substâncias orgânicas (RAVEN; EVERT; EICHHOR, 2001). A FBN em espécies da família Leguminosae é realizada por bactérias pertencentes a diversos gêneros, denominadas generalistamente de rizóbios, que se associam às raízes das plantas formando estruturas específicas, denominadas nódulos (HUNGRIA et al., 2007).

Nos nódulos, a amônia sintetizada são rapidamente incorporados H^+ , abundantes nas células das bactérias, ocorrendo a transformação em íons amônio NH_4^+ , que serão incorporados em diversas formas de N orgânico, como os ureídios, aminoácidos e amidas. Em troca, a planta fornece metabólitos fotossintetizados ao microrganismo.

Desde a expansão comercial da cultura da soja no Brasil, grandes esforços foram empreendidos no melhoramento das cultivares e na seleção de estirpes de *Bradyrhizobium* para proporcionar taxas elevadas de FBN. Segundo Hungria et al. (2006), até 94% do N requerido pelas cultivares mais produtivas de soja pode ser fornecido pela FBN, o que permite rendimentos superiores a 4.000 kg ha^{-1} .

Em que pese a grande eficiência do processo simbiótico no fornecimento do N à cultura da soja, existe forte pressão ao uso de fertilizante nitrogenado à cultura sem embasamento científico. O N mineral, além de trazer prejuízos à nodulação e à FBN, resulta em aumento de custos para o produtor, poluição ambiental e em geral não resulta em aumento de produtividade. Quando, por algum motivo, há alguma resposta à adubação nitrogenada, na maioria das vezes não é economicamente viável (MENDES et al., 2008).

2.6 Fatores que afetam a dinâmica do N no solo

O N no solo ocorre predominantemente na forma orgânica, sendo a regulação de sua disponibilidade quase totalmente dependente da ação microbiana através da mineralização da MOS. Insam et al. (1996) indicaram que as transformações do N no solo, como a amonificação e nitrificação, são altamente influenciadas pelas formas de manejo impostas. A menor taxa de nitrificação sugere menor potencial de perda de N do sistema por lixiviação. Já a maior taxa de amonificação indica maiores quantidades de N que podem ser mineralizadas no solo e disponibilizadas à comunidade microbiana e vegetal (FAGOTTI et al., 2012).

A relação C/N é um dos principais fatores que afetam a disponibilidade de N no solo. Quanto maiores forem os valores da relação C/N acima de 30:1, mais lenta será a degradação do resíduo e maior será a imobilização do N. Com a diminuição da relação C/N para valores menores que 30:1, haverá predomínio de mineralização do N pelos microrganismos (ERNANI, 2003). Embora relação C/N seja relacionada predominantemente à decomposição de resíduos não estabilizados biologicamente, alterações na disponibilidade de N no solo podem interferir na

dinâmica da MOS. Rangel; Silva (2007) observaram que o aumento da disponibilidade de N pela adição de fertilizante nitrogenado estimulou a mineralização da matéria orgânica em longo prazo pela diminuição da relação C/N. A adubação nitrogenada estimula a atividade microbiana que passa a atuar na mineralização das frações húmicas (GEISSELER; SCOW, 2014), o que em longo prazo leva à diminuição dos estoques de C e N no solo.

O tipo de solo também interfere na dinâmica do N. Solos argilosos geralmente apresentam maior CTC, o que aumenta a capacidade de retenção de formas catiônicas, como o amônio, mas por outro lado leva à repulsão da forma nítrica da fase sólida, fazendo com que predomine na fase líquida e, portanto, mais sujeita à lixiviação (SANGOI et al., 2003). Em solos arenosos, geralmente ocorre maior drenagem pela maior ocorrência de macroporos em comparação a solos argilosos, o que favorece perdas por lixiviação, principalmente de nitrato. Já em solos argilosos, a predominância de microporos favorece a ocorrência de condições redutoras, o que favorece o processo de desnitrificação. Solos arenosos geralmente apresentam menores teores de matéria orgânica comparados a solos argilosos, o que conseqüentemente resulta em um menor teor de N total potencialmente mineralizável. Paralelamente também há menor biomassa microbiana, o que diminuem as chances de imobilização temporária do nutriente, tornando-o mais propenso a perdas no ambiente (WOHLENBERG et al., 2004). Nogueira et al. (2006) encontraram maior disponibilidade de N mineral, em contraste com menor C e N da biomassa microbiana, e respiração basal em ambientes agrícolas, comparados aos de reflorestamento com vegetação nativa. Isso, segundo Mummey et al. (2002), denota uma ciclagem ineficiente do N no solo do ambiente agrícola, expondo-o a perdas por lixiviação ou desnitrificação.

A acidez, além de influenciar negativamente o processo de FBN (HARA; OLIVEIRA, 2005), também influencia nas transformações do N no solo, como a mineralização e sobretudo a nitrificação. A nitrificação ocorre predominantemente em condições de pH próximo à neutralidade. Assim, a realização de calagem, embora indispensável para o estabelecimento das culturas, favorece a ocorrência de nitrificação (BINI et al., 2014). O processo de nitrificação em si não é deletério, já que as plantas absorvem predominantemente o nitrato da solução do solo. O problema é que a forma nítrica é muito mais sujeita a perdas no ambiente do que a forma amoniacal.

Áreas de produção necessitam periodicamente da correção da acidez do solo em razão dos processos naturais de acidificação, tanto em sistema de plantio direto (PD) quanto plantio convencional (PC) (CAIRES et al., 2001). A calagem promove ainda o desenvolvimento das raízes

das plantas pelo fornecimento de Ca, que também atua na estabilidade de agregados (SPERA et al., 2008) do solo.

A forma de N fornecida via fertilizantes influencia na sua dinâmica no ambiente e na sua absorção pelas plantas. Formas amoniacais como ureia, sulfato de amônio, MAP e DAP num primeiro momento são menos propensas à lixiviação pela adsorção do cátion amônio às cargas negativas do solo (ERNANI, 2003). Assim, em ambientes redutores, como em solos inundados para o cultivo de arroz, em que o potencial de desnitrificação é elevado, as formas amoniacais são menos propensas a perdas por desnitrificação. Entretanto, se a quantidade fornecida for maior que a capacidade de absorção pelas plantas, o amônio sofrerá nitrificação, resultando em nitrato, que ficará sujeito à desnitrificação. Durante a nitrificação, haverá liberação de prótons no ambiente, resultando em diminuição do pH. Por isso, fertilizantes amoniacais têm maior potencial de causar acidez no solo. Já as formas nítricas não causam efeito no pH do solo pois não passam pelo processo de nitrificação, mas por outro lado já estão prontamente sujeitas a perdas por lixiviação e desnitrificação.

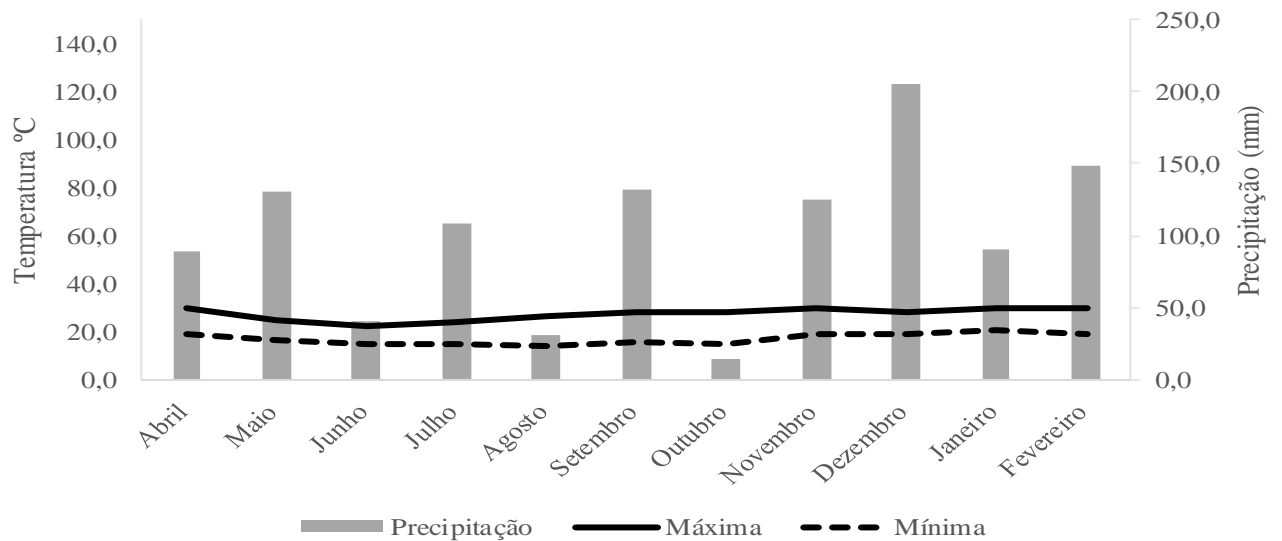
Solos argilosos submetidos a manejo inadequado são mais facilmente compactados, o que dificulta a aeração e favorece as perdas de N por desnitrificação (RANGEL; SILVA, 2007). Entretanto, o manejo conservacionista do solo, como o sistema plantio direto, propicia aumento dos estoques de C (CHOUDHURY et al., 2014) e N (SIX; PAUSTIAN, 2014) e formação de macroporos, o que favorece a aeração e a permeabilidade do solo (ALBULQUERQUE SANGOI; ENDER, 2001; MOREIRA et al., 2014). A deposição de material orgânico sobre o solo, como nos sistemas de semeadura direta, além de contribuir na regulação da temperatura e umidade (GASPARIN et al., 2005) também contribui para a melhoria das suas propriedades físicas, a qual interfere na dinâmica de gases e água e assim na dinâmica do N no ambiente.

Portanto, o presente trabalho foi conduzido no intuito de avaliar a dinâmica do N fornecido via adubação nitrogenada na cultura do trigo responsivo e pouco responsivo ao N, e seus eventuais efeitos na cultura da soja cultivada em sucessão, em áreas com e sem calagem.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido a campo na estação experimental da Embrapa Soja, Londrina-Paraná (latitude 23° 11' S; longitude 51° 11' W; 620 m de altitude). O clima da região, de acordo com a classificação de Köppen, é do tipo subtropical úmido (Cfa), sendo a temperatura média anual de 21 °C, com temperatura média máxima de 28,5 °C em fevereiro (mês mais quente) e temperatura média mínima de 13,3 °C em julho (mês mais frio). A precipitação média anual é de 1651 mm, com média de 217 mm em janeiro (mês mais chuvoso) e 60 mm em agosto (mês mais seco). Os dados de temperatura média e precipitação pluvial durante o experimento foram obtidos na estação agroclimatológica da Embrapa Soja e são apresentados na Figura 3.1.

Figura 3.1: Dados climáticos de precipitação acumulada mensalmente e temperatura média do ar entre abril de 2014 a fevereiro de 2015 (EMBRAPA SOJA, 2015).



O experimento foi instalado do início de 2012 e conduzido até o início de 2015, em um LATOSSOLO Vermelho distroférico muito argiloso (784 g kg⁻¹ de argila, 144 g kg⁻¹ de silte e 72 g kg⁻¹ de areia na camada de 0-30 cm de profundidade) (SANTOS et al. 2013), com sistema de sucessão das culturas entre trigo (inverno) e soja (verão). A área utilizada tinha um total de 2337 m² com delineamento experimental em blocos casualizados, em arranjo fatorial, com quatro repetições, em parcelas de 4 m × 6 m.

Os tratamentos consistiram em dois níveis de calagem (presença e ausência), em combinação com doses de nitrogênio (N) (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ na forma de nitrato de amônio, aplicadas em cobertura). Durante o inverno a área foi cultivada com as cultivares de trigo BRS Gralha Azul, tolerante ao alumínio, e CD-150, suscetível. Cada variedade de trigo foi considerada um ensaio que foi analisado separadamente. Antes da semeadura do trigo foram aplicados 2028 kg ha⁻¹ de calcário dolomítico para elevação da saturação por bases (V) a 70% em 2013, ou mantida a área sem calagem. A adubação da cultura do trigo consistiu de 100 kg ha⁻¹ de P₂O₅ (Superfosfato simples), 60 kg ha⁻¹ de K₂O (Cloreto de potássio), 3 kg ha⁻¹ de Ulexita, 2 kg ha⁻¹ de CuSO₄, 2 kg ha⁻¹ de MnSO₄, 2 kg ha⁻¹ de NiSO₄ e 6 kg ha⁻¹ de ZnSO₄. Após o cultivo do trigo, foi instalada a cultura da soja, cv. BRS 360 RR, que recebeu 300 kg ha⁻¹ do formulado 00-20-20. Como fonte de N para a soja, as sementes foram inoculadas com inoculante comercial com *Bradyrhizobium*. Tanto a cultura de inverno quanto a de verão foram instaladas sob semeadura direta.

As amostragens de solo foram realizadas em três épocas, em três profundidades (0-10, 10-20 e 20-40 cm), nos períodos da cultura do trigo (junho de 2014), na entressafra (agosto de 2014) e no florescimento da soja (fevereiro de 2015). Assim que coletadas, foram encaminhadas ao Laboratório de Biotecnologia do Solo da Embrapa Soja – Londrina para as análises. O solo foi peneirado em peneira de malha 4 mm e armazenado sob refrigeração a 4 °C. O solo das profundidades 10-20 e 20-40 cm foi seco em temperatura ambiente e moído. Nas amostras de plantas, foram estimados a massa e a concentração de N na palhada do trigo. Os teores de N, biomassa da parte aérea e nodulação das plantas de soja foram avaliados no florescimento da soja. As amostras de plantas foram encaminhadas ao laboratório e colocadas na estufa de ventilação forçada a 50 °C, para secagem por 72 h. Em seguida, foram moídas em moinho de tecido vegetal e armazenadas em recipientes com tampa e devidamente identificados. As raízes de soja foram lavadas cuidadosamente e secas em estufa com ventilação forçada a 50 °C. Após esse processo, realizou-se a contagem e a pesagem dos nódulos, para obter o número de nódulos (NN) e a massa seca dos nódulos (MSN), respectivamente. Ao final do ciclo de cada cultura, estimou-se a produtividade de grãos com base na área útil da parcela.

Nas amostras de solo foram estimados a capacidade de retenção de água, umidade do solo, a taxa de nitrificação, respiração basal, carbono da biomassa microbiana (CBM), nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) e a atividade das enzimas celulase, desidrogenase e glutaminase,

nas amostras coletadas na profundidade de 0-10 cm. Já as avaliações do nitrogênio total (NOT), carbono total (COT) e pH foram feitas em todas as profundidades (0-10; 10-20; e 20-40 cm).

3.1 Capacidade de retenção de água (CRA)

Em balança analítica foram pesados 20 g de solo úmido em um copo plástico (80 mL) perfurado na base e colocado em placa de Petri contendo água. Após uma noite nesta condição, 10 g dessa amostra foram transferidos para um recipiente com tara determinada e levados à estufa a 105 °C por 24 h. O peso seco do conjunto foi determinado e a capacidade de retenção de água calculada (MONTEIRO; FRIGHETTO, 2000).

3.2 Determinação da umidade do solo

Após peneirar as amostras, 10 g de solo úmido foram pesados em um recipiente de tara conhecida, anotando ambos os valores. As amostras foram encaminhadas à estufa a 105°C por 24 h. Por fim, após resfriar as amostras, foi determinada a massa do conjunto em uma balança digital e então efetuado o cálculo: teor de água = [(massa úmida - massa seca)/massa seca] * 100 (MONTEIRO; FRIGHETTO, 2000).

3.3 Taxa de nitrificação

As amostras de solo foram incubadas com sulfato de amônio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (29,49 g L⁻¹) de forma a fornecer 125 µg de N g⁻¹, mantendo-se também alíquotas da mesma amostra sem adição do sal. Em seguida foi corrigida a umidade para 70% da capacidade de retenção de água (CRA). As amostras foram então incubadas no escuro a 28 °C por 21 dias. A extração foi realizada com solução de KCl 2 mol L⁻¹. Para a determinação do N-NH₄⁺ e do N-NO₃⁻ a extração ocorreu em duas etapas: a primeira denominada tempo zero no dia da incubação, para se conhecer os teores iniciais, e a segunda 21 dias após a incubação. Para a extração foram pesados 25 g de amostra em frascos de extração e adicionados 100 mL de KCl 2 mol L⁻¹. As amostras foram agitadas em torno de 2 horas a 200 rpm e, em seguida, filtradas (SCHUSTER; SCHRODER, 1990).

A quantificação do N-NH_4^+ e N-NO_3^- foi realizada por método colorimétrico em microplacas com adições de extrato e reagentes específicos, seguido da leitura da absorbância. Para o N-NH_4^+ foram adicionados 200 μL do extrato e as soluções para o desenvolvimento da cor. Após incubação por 1 h no escuro realizou-se a leitura colorimétrica a 697 nm (SEARLE, 1984). Para o N-NO_3^- foram adicionados 80 μL do extrato e 40 μL das soluções de sulfanilamida 2% e de NEED 0,1%. Por fim foram adicionados 80 μL de VCl_3 0,6%. Após incubação a 60 °C por 1 h, realizou-se a leitura a 540 nm em leitor de microplacas (MIRANDA; ESPEY; WINK, 2001).

3.4 Respiração basal do solo

Foi feita previamente a correção da umidade das amostras para 70% da capacidade de campo. Utilizou-se uma armadilha contendo uma solução de NaOH 0,5 mol L^{-1} , a qual tem finalidade de capturar o CO_2 da atividade respiratória. Na sequência, os frascos foram lacrados com auxílio de filme plástico e tampados. A incubação foi realizada por 7 d a 28°C no escuro. Após esse período, a avaliação ocorreu no 3º e 7º d pela titulação com HCl 0,5 mol L^{-1} após adição de solução de cloreto de bário (BaCl_2) saturada. Em seguida, adicionaram-se 2 gotas do indicador fenolftaleína e realizou-se a titulação do NaOH remanescente com solução de HCl 0,5 mol L^{-1} . Por fim, calculou-se a quantidade de C-CO_2 liberada por grama de solo durante a incubação (ALEF, 1995).

3.5. Desidrogenase

Em 5 g de amostra em tubos de ensaio adicionou-se solução de TTC 2,3,5 cloreto de trifeniltetrazólio a 1,5%. O frasco contendo as amostras e solução foi agitado em vórtex, tampados com filme plástico e o conjunto incubado a 37 °C por 24 h. Após esse período, adicionou-se metanol e após agitação em vórtex o sobrenadante foi centrifugado a 3400 rpm em tubos de microcentrífuga de 2 mL. Do sobrenadante foi mensurada a intensidade de cor vermelha em espectrofotômetro a 485 nm. O valor de TPF (trifeniltetrazólio formazana) produzido foi calculado por meio de curva de calibração (CASIDA et al., 1964).

3.6 Celulase

A atividade da celulase foi estimada pela produção de açúcares redutores após a incubação de 10 g de amostra com solução de carboximetilcelulose (CMC) 0,7% em tampão acetato a 2 mol L^{-1} e pH 5,5. Na prova em branco foi feito o mesmo processo de incubação, sendo apenas adicionado o tampão acetato e, então, adicionado o CMC após a incubação. As amostras foram agitadas, centrifugadas a 9000 rpm em tubos de microcentrífuga de 2 mL e diluídas em 1:20 em água destilada. Logo após, 1 mL foi juntado às soluções para o desenvolvimento de cor, incubado-se em banho Maria a 100°C por 15 min, e finalmente a última solução para o desenvolvimento de cor. Após uma hora de repouso as mostras foram submetidas à leitura em espectrofotômetro a 690 nm (SCHINNER; VON MERSE, 1990).

3.7 L-Glutaminase

As amostras foram incubadas a 37°C por 2 h em tampão tris-hidroxiaminometano (THAM) $0,1 \text{ Mol L}^{-1}$, L-glutamina $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e tolueno. A atividade enzimática foi estimada pelo amônio liberado na reação, determinado pelo método de destilação por arraste a vapor. A solução indicadora foi composta de uma solução de ácido bórico e posteriormente titulou-se com uma solução de H_2SO_4 $0,0025 \text{ mol L}^{-1}$ (FRANKENBERGER; TABATBAI, 1991).

3.8 Biomassa microbiana

O método para determinação do C e N da biomassa microbiana consiste na fumigação das amostras com clorofórmio e extração com solução salina. Alíquotas da mesma amostra de solo foram transferidas para dois 2 frascos de vidro, sendo uma fumigada (F) com clorofórmio e a outra não fumigada (NF). Para a fumigação, as amostras foram colocadas em uma caixa de vácuo, umedecida internamente com papéis no fundo e frascos contendo clorofórmio sem etanol. Após aplicação de vácuo no dessecador para provocar a ebulição do clorofórmio, as amostras permaneceram expostas ao gás por 24 h. As amostras NF também foram acondicionadas pelo mesmo período em ambiente escuro.

Após a incubação, realizou-se a extração com solução extratora (K_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$), agitando-se por 1 h 160 rpm, seguido por centrifugação por 10 min a 2500 rpm. O C e o N da

biomassa microbiana foram estimados a partir da diferença das amostras fumigadas e não fumigadas, com um fator de $K_C = 0,33$ para carbono (VANCE; BROOKES; JENKINSON, 1987) e $K_N = 0,54$ para nitrogênio (BROOKES et al., 1985).

Com base nos dados obtidos anteriormente, calculou-se a relação C/N da biomassa microbiana e o quociente metabólico (qCO_2) (ANDERSON; DOMCH, 1993).

3.9 Carbono orgânico total

A determinação do carbono orgânico total (COT) foi realizada pelo método proposto por Walkley & Black, que consiste na oxidação do carbono orgânico do solo por íons de dicromato em meio ácido e determinação do remanescente do oxidante. A determinação do dicromato remanescente é feita pela titulação com uma solução padrão de sulfato ferroso amoniacal (EMBRAPA, 1997).

3.10 Nitrogênio total

A determinação do nitrogênio total do solo foi realizada pelo método descrito por Bataglia et al. (1978). Após digestão sulfúrica, as amostras foram submetidas à destilação pelo método Kjeldahl e titulação com solução de ácido clorídrico para determinação da amônia.

3.11 Teor de Nitrogênio na Parte Aérea da Soja e na Palhada do Trigo

As amostras foram submetidas à digestão sulfúrica seguido por determinação colorimétrica pelo método verde de salicilato (SEARLE, 1984). Em 0,1 g de material seco moído, foram adicionados aproximadamente 200 mg de catalisador (K_2SO_4 e $CuSO_4$, na proporção de 10:1) e 1,5 mL de H_2SO_4 concentrado em tubos de digestão. Os tubos contendo as amostras foram levados ao bloco digestor a 210 °C onde foram mantidos até atingir uma fase líquida escura. Em seguida, as amostras foram retiradas do bloco e após resfriamento receberam 1 mL de H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) pela parede do tubo. Ao retorná-los ao bloco digestor, aumentou-se a temperatura para 280 °C por 20 min e depois para 350 °C até atingir a coloração verde claro. Ao atingir essa fase, as

amostras foram diluídas nas proporções de 1:30, seguida por nova diluição a 1:10. Da última diluição retirou-se 1 mL para tubos de ensaios aos quais foram adicionadas as soluções para o desenvolvimento da cor. Após uma hora de reação foi realizada leitura em espectrofotômetro a 697 nm (TEDESCO; GIANELLO, 1979; SEARLE, 1984).

3.12 Análises Estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise de variância com aplicação do teste F ($p < 0,05$) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p < 0,05$) pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2010), segundo um delineamento em blocos casualizados em arranjo fatorial, separadamente para cada cultivar de trigo. Também foi realizada análise de multivariada com variáveis explicativas e ambientais por meio do programa CANOCO (TEER BRAAK; SMILAUER, 1988). Como variáveis explicativas foram considerados a produção de grãos, teores de N nas folhas, atividades enzimáticas, biomassa microbiana, relação C/N da biomassa microbiana, $q\text{CO}_2$, respiração basal, taxas de amonificação e nitrificação, e nodulação da soja. Os resultados da análise química do solo, N total e C total foram considerados variáveis ambientais. As análises foram realizadas separadamente por genótipo de trigo.

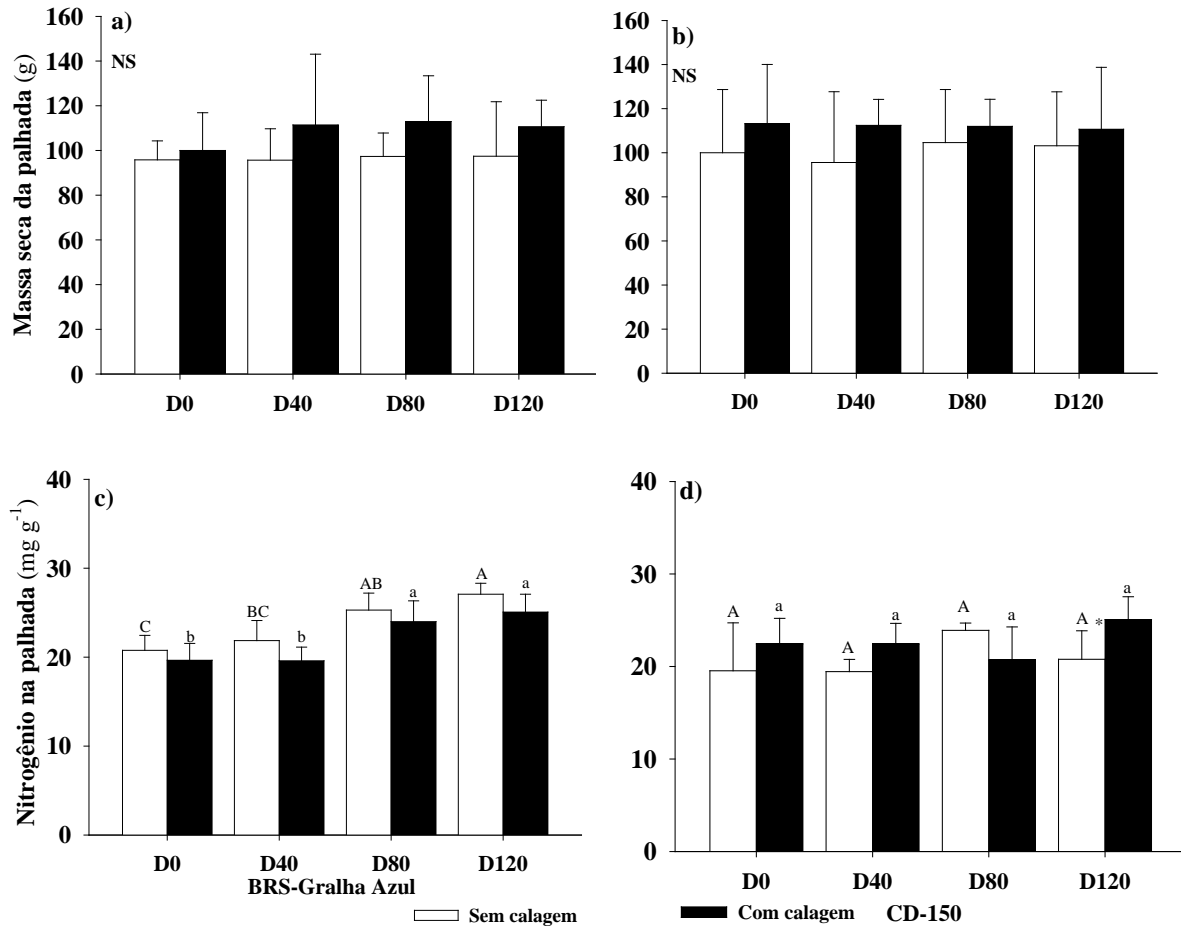
4. RESULTADOS

4.1 Efeito nas culturas

4.1.1 Trigo

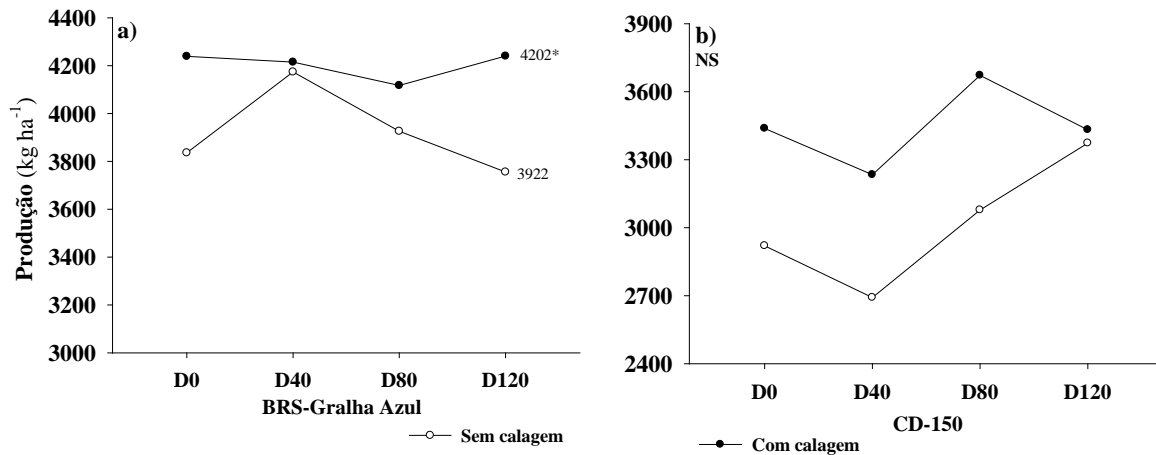
A massa seca da palhada do trigo (Figuras 4.1a e 4.1b) não foi influenciada pela adubação nitrogenada ou pela calagem. Entretanto, o teor de N na palhada aumentou na cultivar BRS Gralha Azul em função das doses de N (Figura 4.1c) mas não na cultivar CD-150 (Figura 4.1d). Já o efeito da calagem no teor de N foi observado apenas na cultivar CD-150, com maior teor nos tratamentos que receberam calagem e na maior dose de N.

Figura 4.1: Efeito da adubação nitrogenada aplicada à cultura do trigo (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura), com e sem calagem, para massa seca da parte aérea seca (a; b); e nitrogênio na palhada do trigo (c; d), nas cultivares BRS Gralha Azul e CD-150; Barras de erro em cada coluna representam o desvio-padrão da média; Médias compartilhando letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre as doses de N sem calagem e letras minúsculas comparam entre as doses de N com calagem; * indica efeito significativo da calagem dentro da dose de N.



Quanto à produção de grãos de trigo, apenas a cultivar BRS Gralha Azul (Figura 4.2a) foi favorecido pela calagem, em que houve maior produção na maior dose de N. Não houve efeito significativo dos tratamentos para a cultivar CD-150 (Figura 4.2b).

Figura 4.2: Efeito da adubação nitrogenada aplicada à cultura do trigo (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura), com e sem calagem, na produtividade do trigo, cultivares BRS Galha Azul (a) e CD-150 (b); * Indica efeito significativo isolado da calagem pelo teste de Tukey a 5 %.

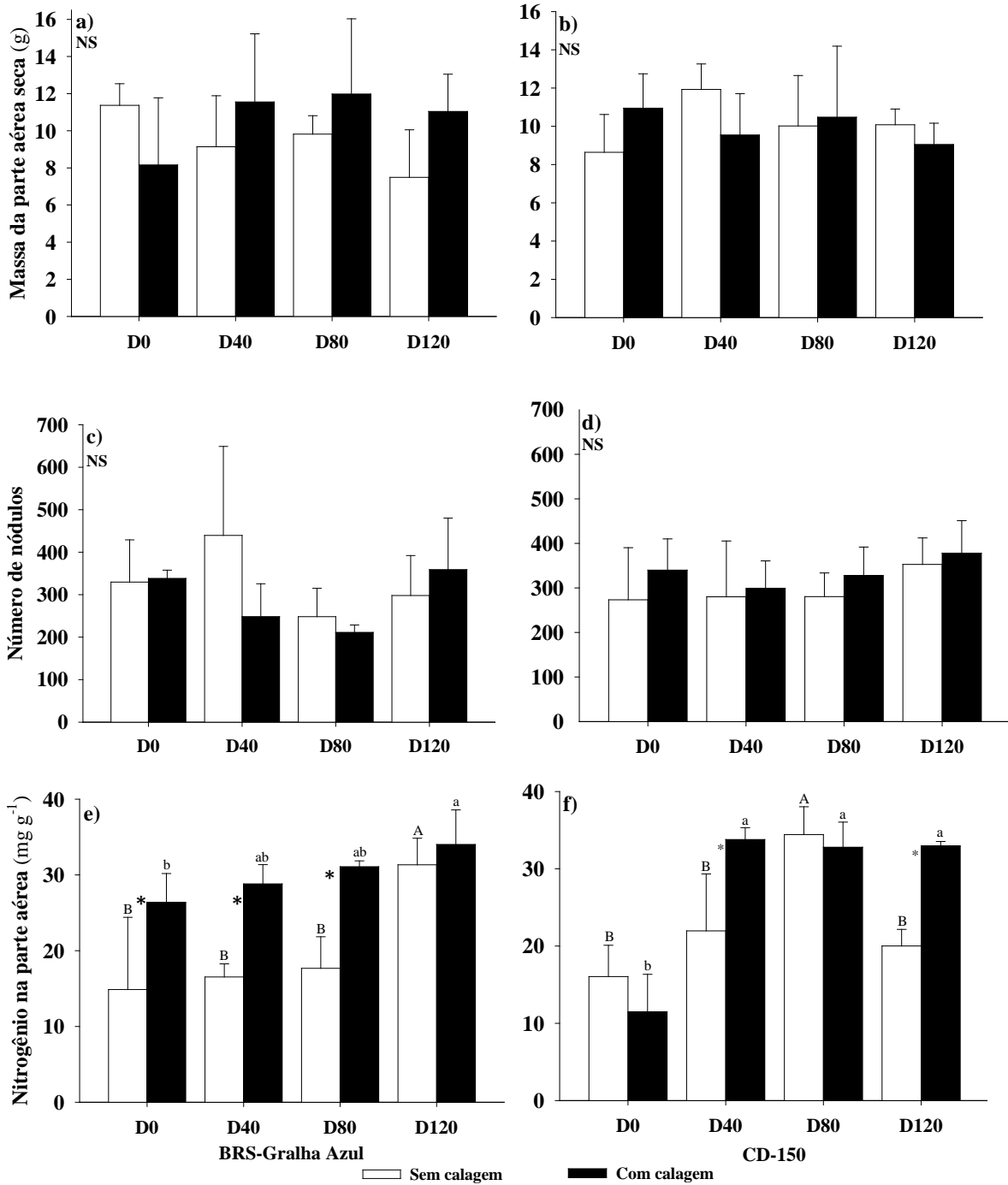


4.1.2 Soja

A massa seca da parte aérea da soja não foi influenciada pelas doses de N aplicadas à cultura do trigo e nem pela calagem, independente da cultivar de trigo (Figuras 4.3a e 4.3b). De forma semelhante à parte aérea, o número de nódulos também não foi influenciado pela calagem e pela adubação nitrogenada aplicada à cultura do trigo antecessora (Figuras 4.3c e 4.3d). A massa de nódulos também não foi influenciada pelos tratamentos (dados não apresentados).

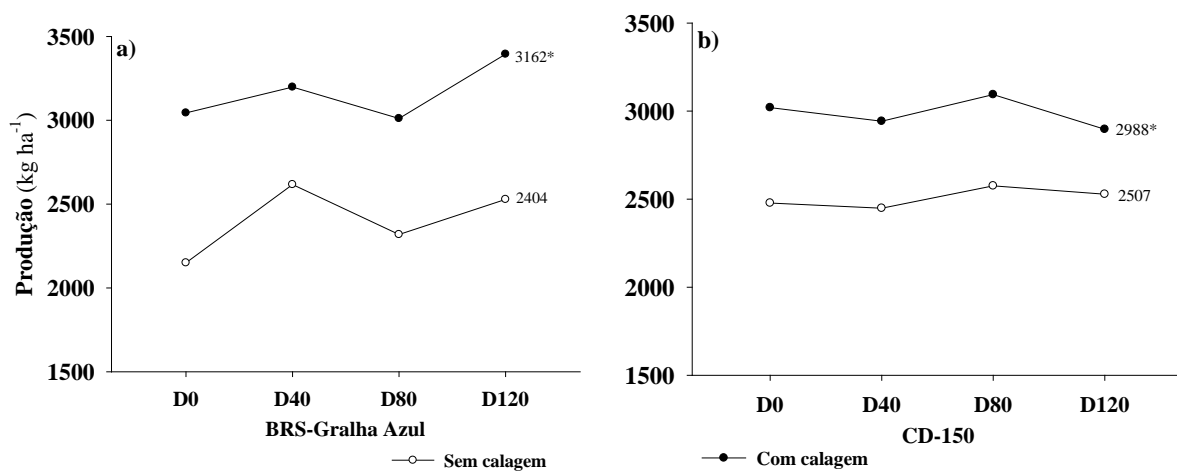
Os teores de nitrogênio na parte aérea de soja foram influenciados tanto pela calagem quanto pela adubação nitrogenada aplicada à cultura de trigo, em ambas cultivares (Figuras 4.3e e 4.3f). Os teores de N na soja aumentaram, de forma geral, com as doses de N aplicadas ao trigo, principalmente a maior dose, em comparação ao controle sem aplicação de N.

Figura 4.3. Efeito da adubação nitrogenada aplicada à cultura do trigo (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura), com e sem calagem, sobre a massa da parte aérea seca (a; b), número de nódulos (c; d) e teor de nitrogênio na parte aérea (e; f) de soja cv BRS360 cultivada em sucessão às cultivares de trigo BRS Galha Azul e CD-150; Barras de erro em cada coluna representam o desvio-padrão da média; Médias compartilhando letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre as doses de N sem calagem e letras minúsculas comparam entre as doses de N com calagem; * indica efeito significativo da calagem dentro da dose de N.



A produtividade da soja foi positivamente influenciada pela calagem tanto em sucessão a cultivar de trigo BRS Galha Azul (Figura 4.4a), quanto a CD-150 (Figura 4.4b). Não houve interação entre calagem e doses de N, apenas efeito isolado da calagem, em que a realização da calagem favoreceu a produtividade da soja cultivada após ambas as cultivares de trigo.

Figura 4.4. Efeito da adubação nitrogenada aplicada à cultura do trigo (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura), com e sem calagem, sobre produtividade da soja cv BRS360 cultivada em sucessão às cultivares de trigo BRS Galha Azul (a) e CD-150 (b);



4.2 Biomassa Microbiana

4.2.1 Carbono da biomassa microbiana (CBM)

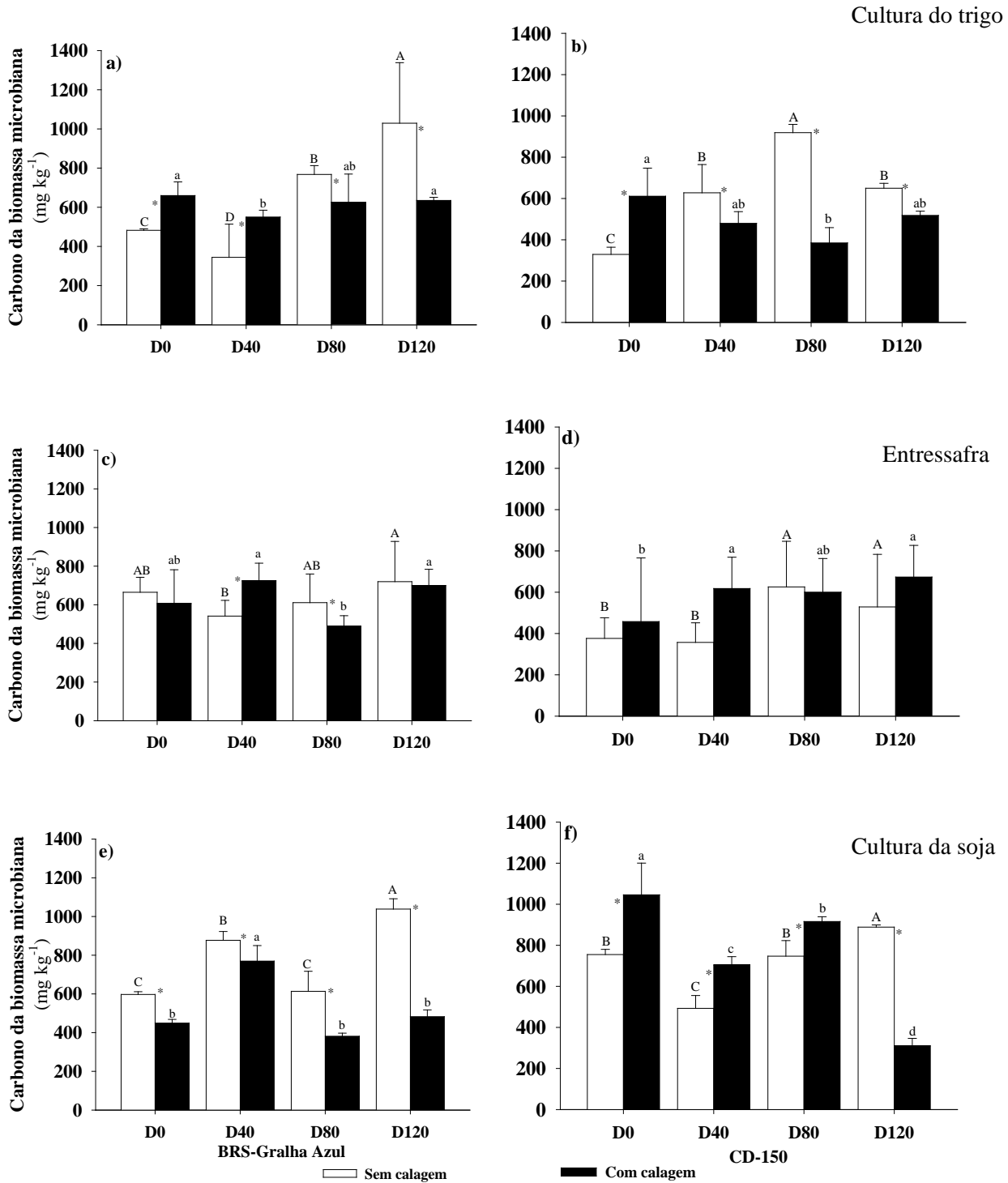
Houve interação significativa para o CBM nas três amostragens. Na primeira, no solo cultivado com o genótipo de trigo BRS Galha Azul, o CBM aumentou com as doses de N quando não se realizou a calagem (Figura 4.5a), tendo a dose 120 kg ha⁻¹ de N resultado no valor mais elevado. Já na presença de calagem, o efeito das doses de N foi menor, variando de 550,4 a 659,7 mg kg⁻¹. No solo cultivado com o genótipo CD-150 (Figura 4.5b), a aplicação de N estimulou a biomassa na ausência de calagem, em comparação ao solo que recebeu calagem.

Na segunda amostragem, realizada na entressafra, o efeito da calagem foi menos evidente sobre o CBM. Já para as doses de N, no solo cultivado com o genótipo BRS Galha Azul, não houve efeito claro (Figura 4.5c), mas no solo cultivado com o genótipo CD-150, houve aumento

com as doses de N empregadas anteriormente, que na presença de calagem já ocorreu a partir da dose 40 kg ha⁻¹ de N (Figura 4.5d).

Na terceira amostragem, realizada na época do cultivo de soja, a calagem promoveu diminuição do CBM em todas as doses de N quando o solo foi previamente cultivado com o genótipo BRS Gralha Azul (Figura 4.5e). Quando o cultivo de soja foi realizado após o cultivar CD-150, a calagem estimulou o carbono da biomassa microbiana, exceto na dose 120 kg ha⁻¹ de N, em que a calagem resultou em diminuição (Figura 4.5f).

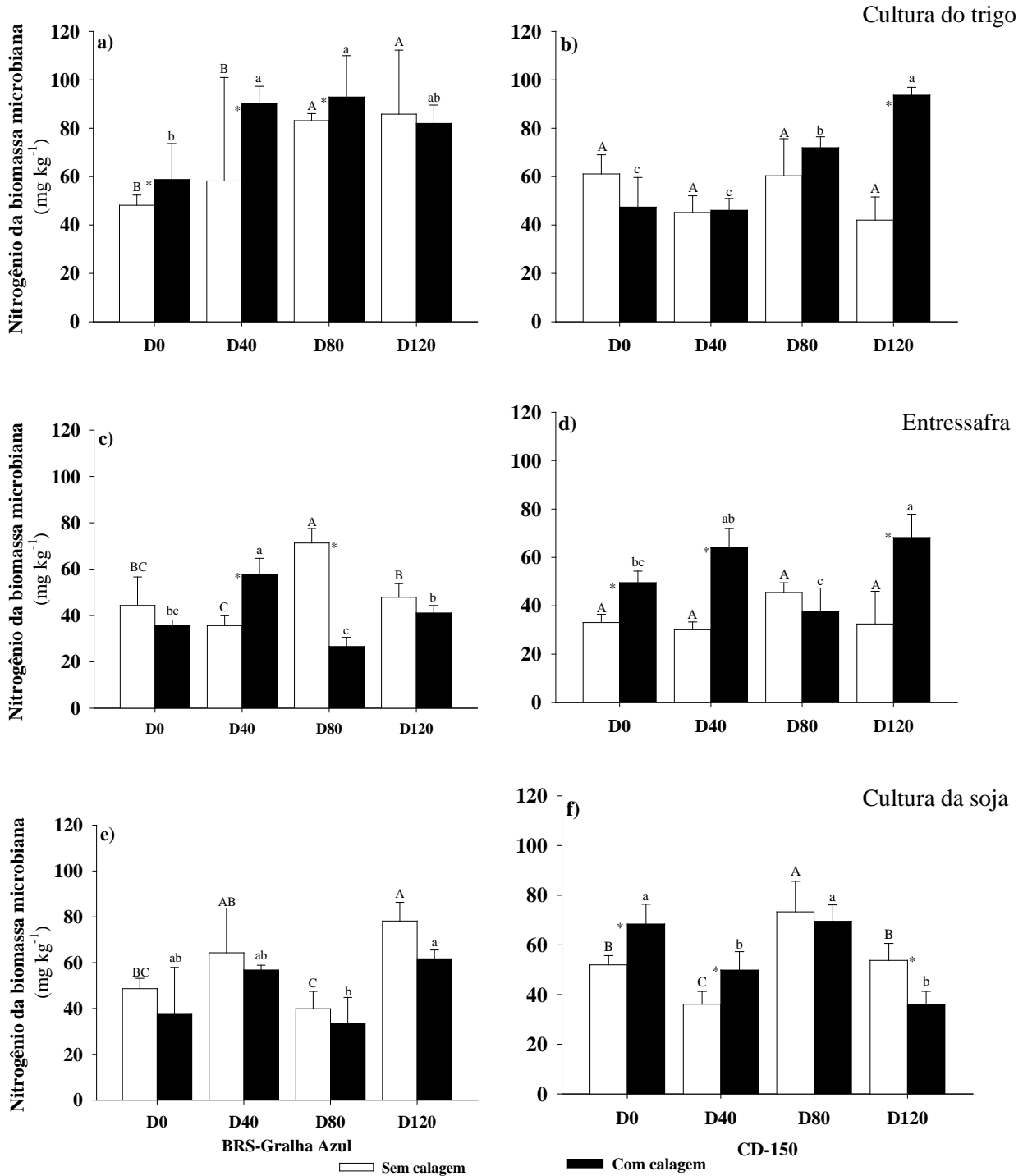
Figura 4.5: Efeito da adubação nitrogenada (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura) aplicada à cultura do trigo (cv. BRS Gralha Azul ou CD-150), com e sem calagem, sobre o carbono da biomassa microbiana no solo amostrado durante a cultura do trigo (a, b), entressafragem (c, d) e cultura da soja (e, f). Barras de erro em cada coluna representam o desvio-padrão da média; Médias compartilhando letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%; Letras maiúsculas comparam entre as doses de N sem calagem e letras minúsculas comparam entre as doses de N com calagem; * indica efeito significativo da calagem dentro da dose de N.



4.2.2 Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM)

O NBM no solo cultivado com o genótipo BRS Gralha Azul (Figura 4.6a), na primeira amostragem, aumentou nas duas maiores doses de N em relação ao controle, na ausência de calagem. Na presença de calagem também houve aumento com a adubação nitrogenada, exceto para a dose 120 kg ha⁻¹ de N. A calagem ainda aumentou o N da biomassa, exceto na maior dose de N aplicada ao trigo. Já para o genótipo CD-150 (Figura 4.6b), a biomassa aumentou com as duas maiores doses de N, apenas quando realizada a calagem. Na segunda amostragem, no solo cultivado com o genótipo BRS Gralha Azul (Figura 4.6c), não houve efeito claro da calagem e das doses de N. Já no solo cultivado com o genótipo CD-150 (Figura 4.6d), a calagem promoveu aumento da biomassa na maioria das doses de N aplicadas ao trigo. Na terceira amostragem, os efeitos dos tratamentos foram menos evidentes, porém, para a cultivar BRS Gralha Azul (Figuras 4.6e), a maior dose de N apresentou maiores valores do NBM, independentemente da aplicação ou não da calagem. Já a cultivar CD-150, houve maior NBM na dose 80 kg ha⁻¹ de N, independentemente da realização ou não de calagem.

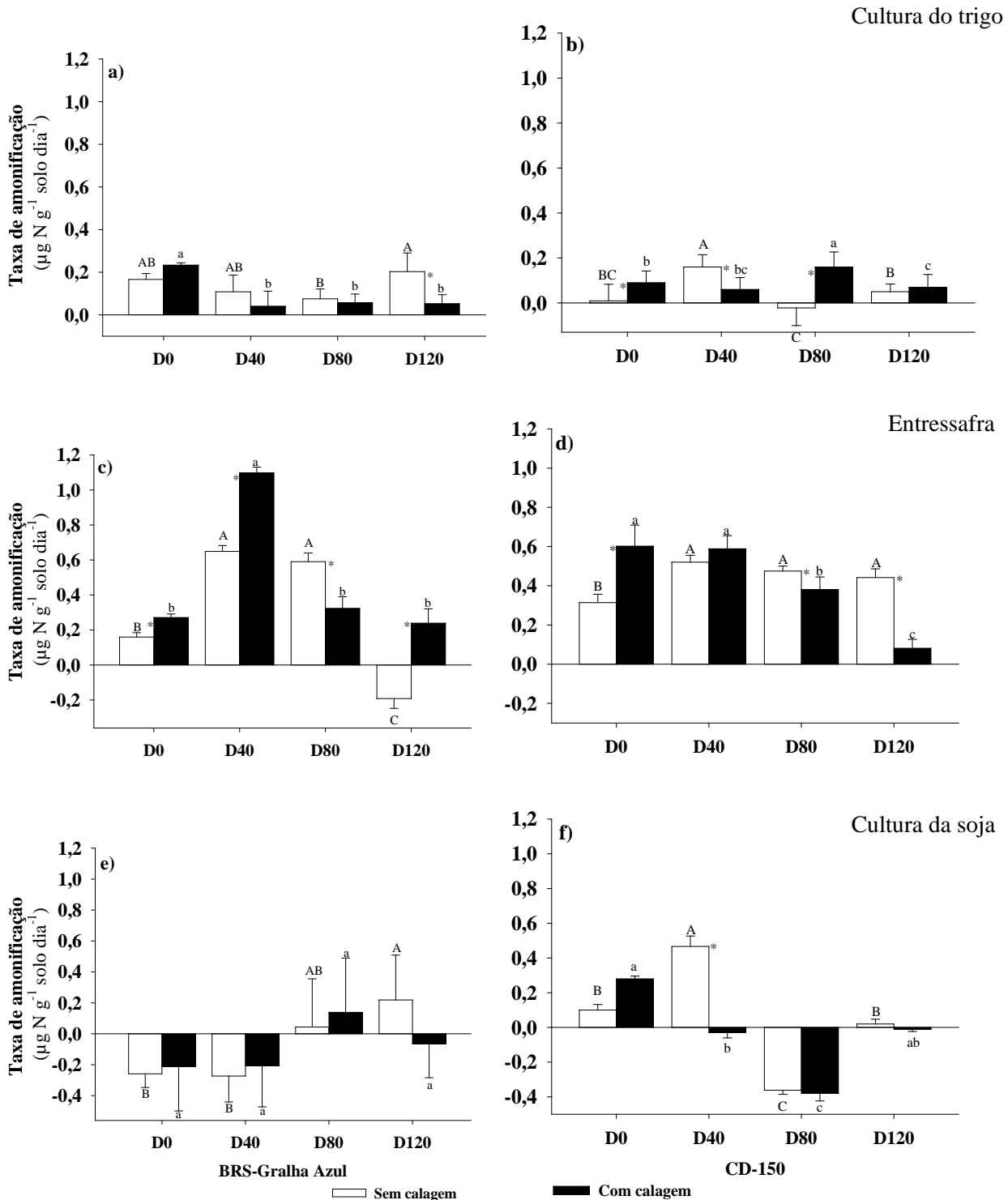
Figura 4.6: Efeito da adubação nitrogenada (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura) aplicada à cultura do trigo (cv. BRS Gralha Azul ou CD-150), com e sem calagem, sobre o nitrogênio da biomassa microbiana no solo amostrado durante a cultura do trigo (a, b), entressafra (c, d) e cultura da soja 3 (e, f). Barras de erro em cada coluna representam o desvio-padrão da média; Médias compartilhando letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%; Letras maiúsculas comparam entre as doses de N sem calagem e letras minúsculas comparam entre as doses de N com calagem; * indica efeito significativo da calagem dentro da dose de N.



4.3 Taxa de amonificação

A taxa de amonificação indica o potencial de mineralização do N orgânico do solo. Nesse quesito, no solo sob cultivo do genótipo BRS Gralha Azul, houve diminuição da taxa quando, na presença de calagem, recebeu N mineral (Figura 4.7a). Já na ausência de calagem, os efeitos das doses de N foram contrastantes apenas entre as doses 80 e 120 kg ha⁻¹. Quanto ao genótipo CD-150, também não houve tendência clara, seja das doses de N, seja da calagem (Figura 4.7b). Na segunda amostragem, para o solo cultivado com BRS Gralha Azul (Figura 4.7c), houve aumento da taxa de amonificação do controle sem adubação nitrogenada para a dose 40 kg ha⁻¹, seguido de diminuição para as demais doses. Esse comportamento foi também influenciado pela calagem, com efeitos diferenciados entre as doses de N, inclusive com resultado negativo na maior dose de N na ausência de calagem, o que sugere imobilização de N no solo. No solo cultivado com o genótipo CD-150 (Figura 4.7d), os efeitos das doses de N também foram influenciados pela calagem, em que na ausência de calagem houve aumento da taxa nos tratamentos que receberam N, enquanto que na presença da calagem houve diminuição a partir da dose 80 kg ha⁻¹. Na amostragem realizada durante o cultivo da soja, o solo anteriormente cultivado com o genótipo BRS Gralha Azul (Figura 4.7e) apresentou taxas negativas no controle e na dose 40 kg ha⁻¹ de N, com aumento da taxa ou valores menos negativos com o aumento das doses de N aplicado ao trigo antecessor à cultura. Já no solo cultivado com o genótipo CD-150 (Figura 4.7f), houve um comportamento oposto, com taxas positivas no controle e na dose 40 kg ha⁻¹ de N, e taxas negativas ou próximas a zero nas duas maiores doses. Esse efeito foi influenciado pela calagem na dose 40 kg ha⁻¹ de N, com valor positivo e negativo, na ausência e presença de calagem, respectivamente.

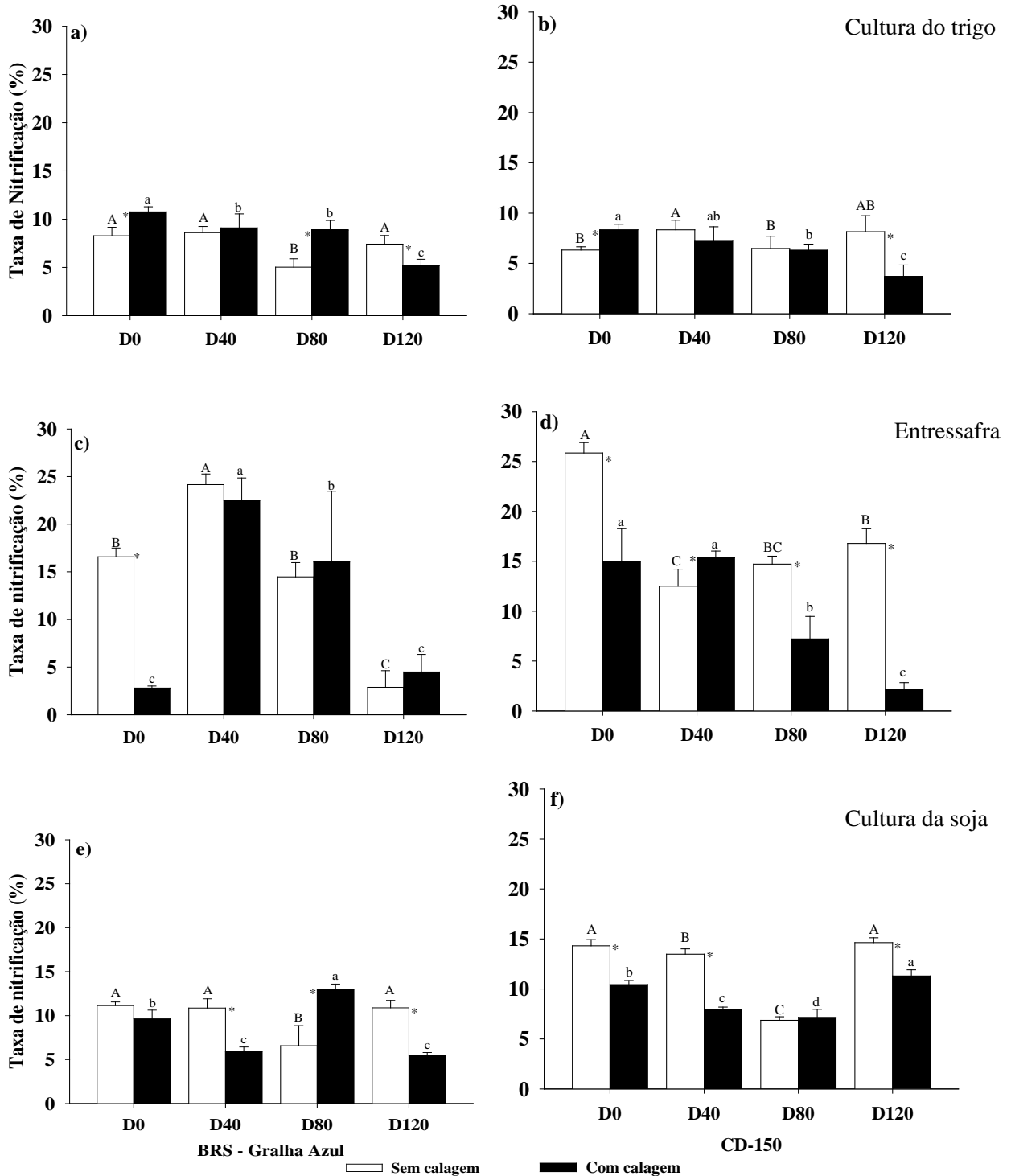
Figura 4.7: Efeito da adubação nitrogenada (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura) aplicada à cultura do trigo (cv. BRS Gralha Azul ou CD-150), com e sem calagem, sobre a taxa de amonificação no solo amostrado durante a cultura do trigo (a, b), entressafra (c, d) e cultura da soja 3 (e, f). Barras de erro em cada coluna representam o desvio-padrão da média; Médias compartilhando letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%; Letras maiúsculas comparam entre as doses de N sem calagem e letras minúsculas comparam entre as doses de N com calagem; * indica efeito significativo da calagem dentro da dose de N.



4.4 Taxa de nitrificação

A taxa de nitrificação na primeira amostragem do solo cultivado com o genótipo BRS Gralha Azul (Figura 4.8a) apresentou diminuição com as doses de N quando foi realizada a calagem. Na ausência de calagem, houve diminuição apenas na dose 80 kg ha⁻¹. No solo cultivado com o genótipo CD-150 (Figura 4.8b) também houve diminuição com as doses de N, na presença de calagem, mas sem um efeito evidente das doses de N na ausência de calagem. Na segunda amostragem, quando já não havia cultura, no solo com o genótipo BRS Gralha Azul (Figura 4.8c) houve aumento da taxa de nitrificação do controle (dose zero de N) para a dose 40 kg ha⁻¹, com diminuição nas doses seguintes, independentemente da realização ou não da calagem. Para CD-150 (Figura 4.8d), sem calagem, houve diminuição da taxa de nitrificação em todos os tratamentos que receberam N mineral no trigo. Quando foi realizada a calagem, houve diminuição nas duas maiores doses. Exceto para a dose 40 kg ha⁻¹ de N, houve menor taxa de nitrificação quando foi realizada a calagem. Na amostragem realizada durante a cultura da soja, no solo anteriormente cultivado com o genótipo BRS Gralha Azul (Figura 4.8e), não houve efeito das doses de N anteriormente aplicadas, independente da realização ou não da calagem. De forma geral, o efeito não claro das doses de N também ocorreu no solo previamente cultivado com o genótipo CD-150 (Figura 4.8f), embora nesse caso tenha havido redução devido à calagem, exceto na dose 80 kg ha⁻¹ de N.

Figura 4.8: Efeito da adubação nitrogenada (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura) aplicada à cultura do trigo (cv. BRS Gralha Azul ou CD-150), com e sem calagem, sobre a taxa de nitrificação no solo amostrado durante a cultura do trigo (a, b), entressafra (c, d) e cultura da soja 3 (e, f). Barras de erro em cada coluna representam o desvio-padrão da média; Médias compartilhando letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%; Letras maiúsculas comparam entre as doses de N sem calagem e letras minúsculas comparam entre as doses de N com calagem; * indica efeito significativo da calagem dentro da dose de N.

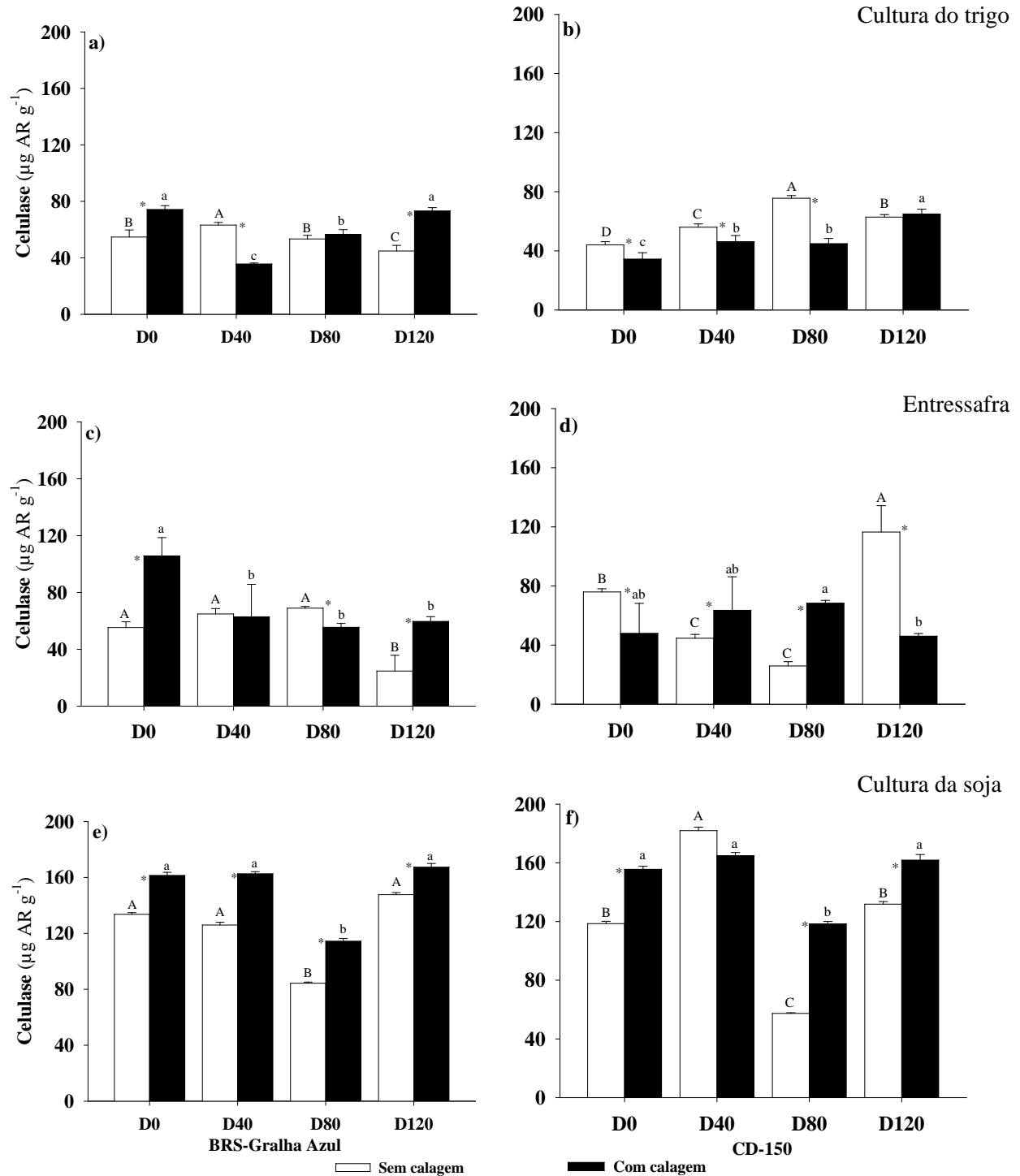


4.5 Enzimas

4.5.1 Celulase

A atividade da celulase na primeira amostragem do solo cultivado com o genótipo BRS Gralha Azul (Figura 4.9a) foi influenciada pelas doses de N e também pela calagem, mas sem efeito claro dos tratamentos, que ora aumentou, ora diminuiu com as doses de N e a calagem. Já no solo cultivado com o genótipo CD-150, houve aumento claro da atividade com o aumento das doses de N, que foi mais evidente e mais intenso na ausência de calagem (Figura 4.9b). Na segunda amostragem, no solo anteriormente cultivado com o genótipo BRS Gralha Azul (Figura 4.9c), a atividade diminuiu com a adição de N no solo com calagem, enquanto no solo sem calagem houve diminuição apenas na maior dose de N. Já no solo cultivado com o genótipo CD-150 (Figura 4.9d), não houve efeito claro dos tratamentos. Na terceira amostragem, durante a cultura da soja, no solo anteriormente cultivado com o genótipo BRS Gralha Azul (Figura 4.9e), houve diminuição da atividade apenas na dose 80 kg ha⁻¹ de N. Já a calagem aumentou a atividade em todas as doses de N. Comportamento semelhante foi observado no solo cultivado como o genótipo CD-150 (Figura 4.9f), com diminuição da atividade na dose 80 kg ha⁻¹ de N e estímulo da calagem, exceto na dose 40 kg ha⁻¹ de N.

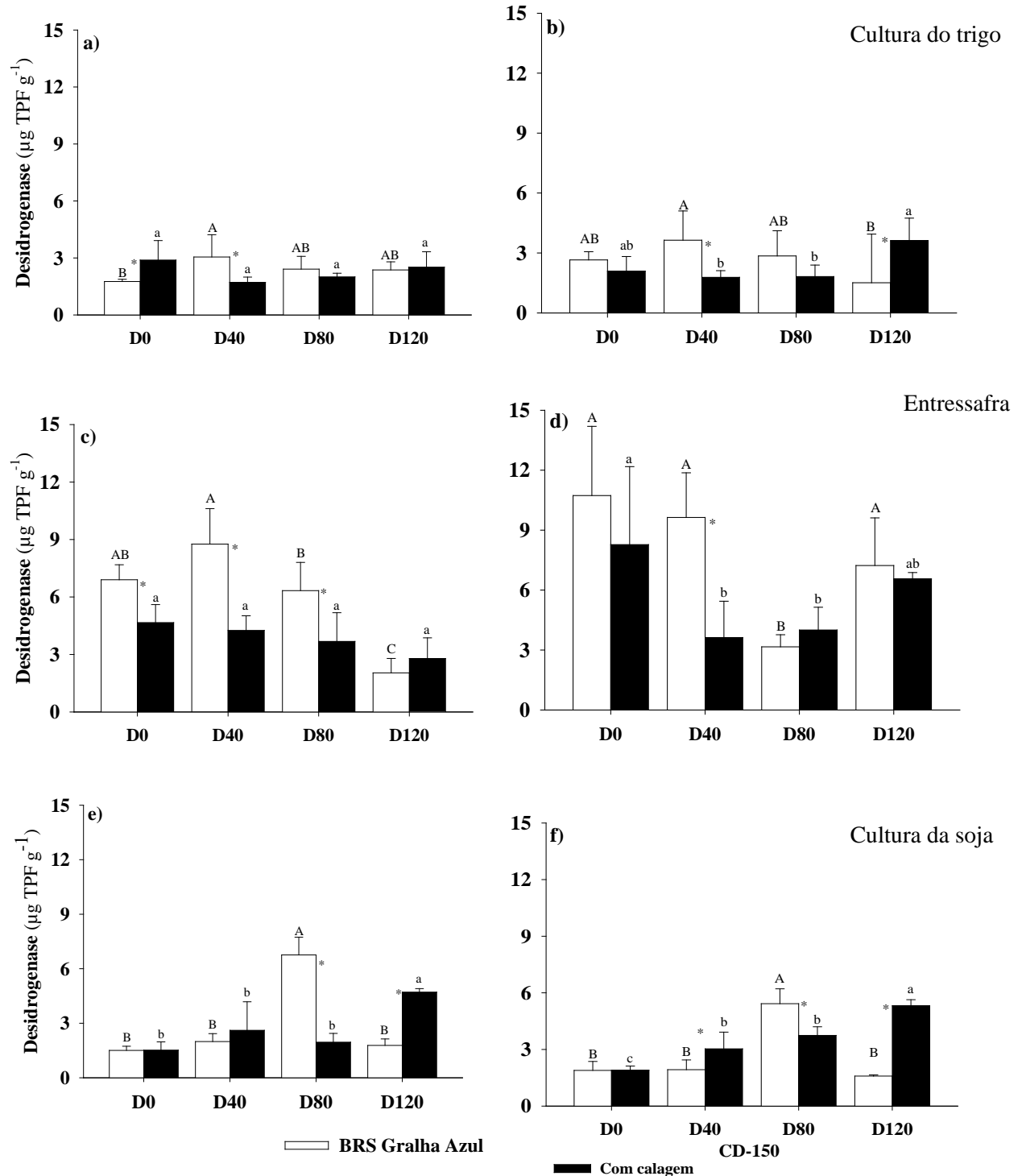
Figura 4.9: Efeito da adubação nitrogenada (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura) aplicada à cultura do trigo (cv. BRS Gralha Azul ou CD-150), com e sem calagem, sobre a atividade da celulase no solo amostrado durante a cultura do trigo (a, b), entressafra (c, d) e cultura da soja 3 (e, f). Barras de erro em cada coluna representam o desvio-padrão da média; Médias compartilhando letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%; Letras maiúsculas comparam entre as doses de N sem calagem e letras minúsculas comparam entre as doses de N com calagem; * indica efeito significativo da calagem dentro da dose de N.



4.5.2 Desidrogenase

Na primeira amostragem, a atividade da desidrogenase no solo cultivado com o genótipo BRS Gralha Azul (Figura 4.10a) não foi influenciada pelas doses de N na presença de calagem; sem calagem, houve apenas pequeno estímulo da atividade na dose 40 kg ha⁻¹ de N, em relação ao controle sem N. Para o solo cultivado com o genótipo CD-150 (Figura 4.10b), não houve efeito claro tanto das doses de N quanto da calagem. Na segunda amostragem, no solo cultivado com BRS Gralha Azul (Figura 4.10c), sem calagem, houve diminuição da atividade com as doses de N do controle para a maior dose, mas não houve efeito das doses de N na presença de calagem. A realização de calagem diminuiu a atividade da desidrogenase em todas as doses de N, exceto em 120 kg ha⁻¹. No solo cultivado com o genótipo CD-150 (Figura 4.6.2d), houve diminuição da atividade com as doses de N na presença de calagem, enquanto que na ausência de calagem a diminuição pela dose de N em relação ao controle só foi significativa em 80 kg ha⁻¹ de N. Na última amostragem, realizada durante o cultivo da soja, no solo anteriormente cultivado com o genótipo BRS Gralha Azul (Figura 4.10e), a atividade aumentou na dose 80 kg ha⁻¹ de N na ausência de calagem e na dose 120 kg ha⁻¹ de N na presença de calagem. No solo cultivado com o genótipo CD-150 (Figura 4.10f), o comportamento foi similar, em que a atividade aumentou com as doses de N, na presença de calagem, enquanto que na ausência de calagem só foi observado aumento da atividade na dose 80 kg ha⁻¹ de N.

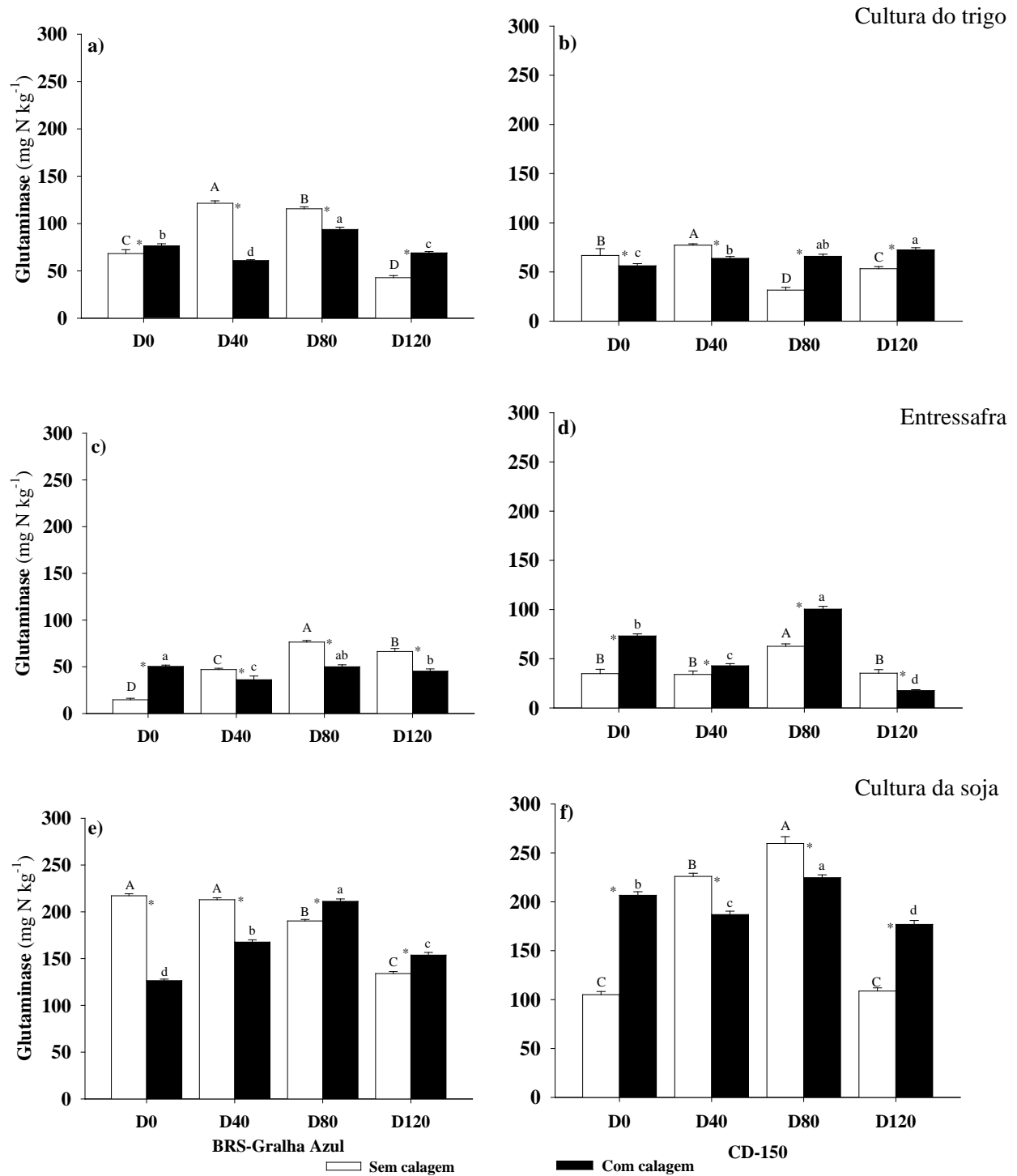
Figura 4.10: Efeito da adubação nitrogenada (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura) aplicada à cultura do trigo (cv. BRS Gralha Azul ou CD-150), com e sem calagem, sobre a atividade da desidrogenase no solo amostrado durante a cultura do trigo (a, b), entressafra (c, d) e cultura da soja 3 (e, f). Barras de erro em cada coluna representam o desvio-padrão da média; Médias compartilhando letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%; Letras maiúsculas comparam entre as doses de N sem calagem e letras minúsculas comparam entre as doses de N com calagem; * indica efeito significativo da calagem dentro da dose de N.



4.5.3 L-glutaminase

A atividade da glutaminase na primeira amostragem, no solo com o genótipo BRS Galha Azul (Figura 4.11a), na ausência de calagem, aumentou do controle para a primeira e segunda dose de N, mais diminuiu na maior dose. Na presença de calagem, entretanto, a maior atividade ocorreu na dose 80 kg ha⁻¹. Já no solo com o genótipo CD-150 (Figura 4.11b), as amplitudes das atividades foram menores, sendo que na ausência de calagem as duas maiores doses de N promoveram diminuição da atividade, enquanto que na presença de calagem houve aumento da atividade com o aumento das doses de N. Na segunda amostragem, no solo anteriormente cultivado com o genótipo BRS Galha Azul (Figura 4.11c), na ausência de calagem, houve aumento da atividade até a dose 80 kg ha⁻¹, seguido de queda na maior dose. Já na presença de calagem, a atividade foi mais estável entre as doses de N, sem efeito claro das doses. No solo cultivado com CD-150 (Figura 4.11d), a maior atividade foi observada na dose 80 kg ha⁻¹ de N, tanto na presença quanto na ausência de calagem. A calagem promoveu aumento da atividade da enzima na dose 80 kg ha⁻¹ de N e houve diminuição dessa atividade na maior dose de N. Por fim, na última amostragem, no solo anteriormente cultivado com o genótipo BRS Galha Azul (Figura 4.11e), na ausência de calagem, houve diminuição da atividade com as doses de N, enquanto que na presença de calagem houve aumento até a dose 80 kg ha⁻¹, com queda na maior dose. Já no solo cultivado com o genótipo CD-150 (Figura 4.11f), na presença de calagem, a atividade variou entre as doses de N, porém numa amplitude menor. Na ausência de calagem, a atividade aumentou até a dose 80 kg ha⁻¹ de N e diminuiu na dose 120 kg ha⁻¹ de N.

Figura 4.11: Efeito da adubação nitrogenada (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura) aplicada à cultura do trigo (cv. BRS Gralha Azul ou CD-150), com e sem calagem, sobre a atividade da glutaminase no solo amostrado durante a cultura do trigo (a, b), entressafra (c, d) e cultura da soja 3 (e, f). Barras de erro em cada coluna representam o desvio-padrão da média; Médias compartilhando letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%; Letras maiúsculas comparam entre as doses de N sem calagem e letras minúsculas comparam entre as doses de N com calagem; * indica efeito significativo da calagem dentro da dose de N.



4.6 Carbono orgânico total (COT)

O teor de COT apresentou redução com o aumento da profundidade de amostragem (Tabela 4.1 e Tabela 4.2). No solo cultivado com o genótipo BRS Gralha Azul (Tabela 4. 1), na primeira amostragem, houve efeito das doses de N apenas para a média de calagem, na camada 20-40 cm, em que os teores aumentaram com as doses de N. No solo cultivado com o genótipo CD-150 (Tabela 4.2), observou-se efeito dos tratamentos na camada 0-10 cm, nas três amostragens. Na primeira amostragem, a calagem promoveu maiores teores de C em relação ao tratamento sem calagem no controle sem N e na dose 80 kg ha⁻¹. Por sua vez, as doses de N não influenciaram o teor de C na presença de calagem, enquanto que na ausência, o menor teor foi encontrado na dose 80 kg ha⁻¹, mas diferindo apenas da dose 40 kg ha⁻¹. Na segunda amostragem também houve efeito da calagem a 0-10 cm, com redução dos teores na maior dose de N. Na terceira amostragem, a calagem diminuiu os teores de C na dose 80 kg ha⁻¹ de N. Efeito das doses de N foi observado apenas na ausência de calagem, com menor valor no controle e maior na dose 80 kg ha⁻¹ de N.

Tabela 4.1: Efeito da adubação nitrogenada (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura) aplicada à cultura do trigo (cv. BRS Gralha Azul), com e sem calagem, sobre o teor de carbono orgânico total (COT) no solo amostrado durante a cultura do trigo, entressafra e cultura da soja. Médias compartilhando letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre as doses de N; letras minúsculas comparam com e sem calagem.

BRS-gralha azul						
COT						
.....g kg ⁻¹						
Cultivo do trigo						
		D0	D40	D80	D120	Média
00-10 cm	SC	17,3	17,6	15,5	15,6	16,5
	CC	18,5	16,8	16,8	17,1	17,3
	Média	17,9	17,2	16,1	16,4	
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 7,74%				
10-20 cm	SC	15,5	14,6	15,4	16,6	15,6
	CC	15,8	15,3	14,3	15,4	15,2
	Média	15,7	14,9	14,9	16,0	
	Anava	Calagem(C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 5,92%				
20-40 cm	SC	11,3	12,9	11,8	13,0	12,2
	CC	11,4	12,5	12,7	12,1	12,2
	Média	11,4 B	12,7 A	12,3 AB	12,5 A	
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p < 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 10,2%				
Entressafra						
00-10 cm	SC	18,0	18,8	18,2	17,7	18,2
	CC	18,9	18,0	17,8	17,0	17,9
	Média	18,5	18,4	18,0	17,4	
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 6,82%				
10-20 cm	SC	17,1	16,7	17,4	16,8	17,0
	CC	17,1	16,6	16,8	16,3	16,7
	Média	17,1	16,7	17,1	16,6	
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 3,97%				
20-40 cm	SC	13,3	14,2	12,6	13,8	13,4a
	CC	12,0	11,2	11,4	13,1	11,9b
	Média	12,7	12,7	12,0	13,4	
	Anava	Calagem (C); p < 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 8,37%				
Cultivo da soja						
00-10 cm	SC	17,5	17,9	16,8	15,9	17,0
	CC	17,0	16,2	16,9	17,1	16,8
	M	17,2	17,0	16,9	16,5	
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 7,74%				
10-20 cm	SC	16,6	16,0	15,9	16,2	16,2
	CC	15,6	14,9	15,5	16,1	15,5
	Média	16,1	15,5	15,7	16,2	
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 7,35%				
20-40 cm	SC	12,2	11,1	10,6	11,9	11,5
	CC	12,4	11,2	12,2	11,9	11,9
	Média	12,3	11,2	11,4	11,9	
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p < 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 8,72%				

Tabela 4.2: Efeito da adubação nitrogenada (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura) aplicada à cultura do trigo (cv. CD 150), com e sem calagem, sobre o teor de carbono orgânico total (COT) no solo amostrado durante a cultura do trigo, entressafra e cultura da soja. Médias compartilhando letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre as doses de N; letras minúsculas comparam com e sem calagem.

CD-150										
COT										
..... g kg ⁻¹										
Cultivo do trigo										
		D0		D40		D80		D120	Média	
00-10 cm	SC	16,3	ABb	17,7	Aa	14,7	Bb	16,3	ABa	16,2
	CC	18,0	Aa	16,2	Aa	17,6	Aa	16,6	Aa	17,1
	Média	17,2		17,0		16,1		16,5		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p < 0,05 cv = 2,94%								
10-20 cm	SC	16,8		14,5		15,3		16,6		15,8
	CC	15,6		16,1		17,3		15,1		16,0
	Média	16,2		15,3		16,3		15,8		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 4,43%								
20-40 cm	SC	13,8		12,9		14,5		14,5		13,9
	CC	13,5		12,2		13,1		14,9		14,4
	Média	13,7		12,6		13,8		14,7		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 9,41%								
Entressafra										
00-10 cm	SC	17,6	Aa	18,3	Aa	17,7	Aa	19,6	Aa	18,3
	CC	18,4	Aa	18,3	Aa	17,9	Aa	16,4	Ab	17,7
	Média	18,0		18,3		17,8		18,0		
	Anava	Calagem (C); p < 0,05 Dose (D); p < 0,05 CxD; p < 0,05 cv = 2,94%								
10-20 cm	SC	16,8		14,5		15,3		16,6		15,8
	CC	15,6		16,1		17,3		15,1		16,0
	Média	16,2		15,3		16,3		15,8		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 4,43%								
20-40 cm	SC	14,2		13,8		13,9		14,5		14,1
	CC	14,3		13,0		13,7		13,7		13,7
	Média	14,3		13,4		13,8		14,1		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 3,83%								
Cultivo da soja										
00-10 cm	SC	16,4	Ba	18,5	ABa	19,2	Aa	17,8	ABa	18,0
	CC	18,1	Aa	17,0	Aa	16,8	Ab	16,8	Aa	17,2
	Média	17,2		17,7		18,0		17,3		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p < 0,05 cv = 7,90%								
10-20 cm	SC	17,1		17,1		16,9		16,9		17,0a
	CC	16,4		15,9		16,4		16,5		16,3b
	Média	16,7		16,5		16,7		16,7		
	Anava	Calagem (C); p < 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 2,48%								
20-40 cm	SC	12,9		11,7		12,1		12,5		12,3
	CC	11,5		12,4		13,4		12,6		12,5
	Média	12,2		12,1		12,8		12,6		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 7,39%								

4.7 Nitrogênio total (NT)

No solo cultivado com o genótipo BRS Gralha Azul (Tabela 4.3), na primeira amostragem, houve diminuição do teor de N total no solo, na camada 0-10 cm, com o aumento das doses de N aplicadas ao trigo, independentemente da calagem. Na camada 10-20 cm, esse efeito foi menos evidente, tendo sido observada redução apenas na maior dose de N e na presença de calagem. Não foram observados efeitos na camada 20-40 cm. Na segunda amostragem, os efeitos não foram claros a 0-10 cm, com o maior e o menor teor encontrados nas doses 40 e 80 kg ha⁻¹ de N, respectivamente. Na camada 10-20 cm também não houve efeito claro dos tratamentos, sem seguir um padrão com as doses de N ou a calagem. Já na camada 20-40 cm, nenhum efeito foi observado. Na terceira amostragem não houve efeito dos tratamentos na camada 0-10 cm. Na camada 10-20 cm, os teores aumentaram com as doses de N no tratamento sem calagem, enquanto que não houve efeito das doses de N na presença da calagem. A 20-40 cm, o menor teor foi observado no tratamento 80 kg ha⁻¹ de N, tanto na presença quanto na ausência de calagem.

No solo cultivado com o genótipo CD-150 (Tabela 4.4), na primeira amostragem, não houve efeito das doses de N nas camadas 0-10 cm e 20-40 cm. Entretanto, na camada 10-20 cm, o maior teor foi observado na maior dose de N na ausência de calagem, enquanto que na presença de calagem, essa mesma dose resultou no menor teor. Na segunda amostragem, efeito dos tratamentos foi observado apenas na camada 20-40 cm, com aumento dos teores com as doses de N na presença de calagem. Na terceira amostragem, a 0-10 cm, na ausência de calagem, todos os tratamentos que receberam N mineral apresentaram menores teores que o controle sem N. Na presença de calagem, entretanto, não houve claro efeito das doses de N. Na profundidade 10-20 cm, os teores foram variáveis com as doses de N, mas, em geral, foram maiores que no controle sem N, comportamento que também foi observado na camada 20-40 cm.

Tabela 4.3. Efeito da adubação nitrogenada (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura) aplicada à cultura do trigo (cv. BRS Gralha Azul), com e sem calagem, sobre o teor de nitrogênio total (NT) no solo amostrado durante a cultura do trigo, entressafra e cultura da soja. Médias compartilhando letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre as doses de N; letras minúsculas comparam com (CC) e sem calagem (SC).

BRS-gralha azul										
NT										
.....g kg ⁻¹										
Cultivo do trigo										
		D0		D40		D80		D120		Média
00-10 cm	SC	2,3		2,2		2,2		2,2		2,2
	CC	2,2		2,2		2,2		2,2		2,2
	Média	2,3	A	2,2	AB	2,2	B	2,2	B	
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p < 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 3,44%								
10-20 cm	SC	2,1	Ab	2,1	Aa	2,3	Aa	2,3	Aa	2,2
	CC	2,3	Aa	2,2	ABa	2,2	ABa	2,1	Bb	2,2
	Média	2,2		2,1		2,2		2,2		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p < 0,05 cv = 5,92%								
20-40 cm	SC	2,1		2,1		2,0		2,1		2,1
	CC	2,1		2,1		2,0		2,1		2,1
	Média	2,1		2,1		2,0		2,1		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 1,94%								
Entressafra										
00-10 cm	SC	2,4		2,4		2,3		2,3		2,3
	CC	2,3		2,4		2,2		2,2		2,2
	Média	2,3	AB	2,4	A	2,2	B	2,3	AB	
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p < 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 3,53%								
10-20 cm	SC	2,2	Aa	2,1	Bb	2,2	ABa	2,2	Aa	2,2
	CC	2,2	ABa	2,2	Aa	2,1	Ba	2,1	ABb	2,2
	Média	2,2		2,2		1,1		2,2		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p < 0,05 cv = 1,56%								
20-40 cm	SC	1,9		2,1		2,1		2,2		2,1 a
	CC	1,9		1,9		2,0		1,9		1,9 b
	Média	1,9		2,0		2,0		2,0		
	Anava	Calagem (C); p < 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 1,65%								
Cultivo da soja										
00-10 cm	SC	1,5		1,5		1,4		1,6		1,5 b
	CC	2,0		2,3		2,1		2,0		2,1 a
	Média	1,8		1,9		1,7		1,8		
	Anava	Calagem (C); p < 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 11,92%								
10-20 cm	SC	1,8	BCb	1,8	Cb	2,0	ABa	2,1	Aa	1,9
	CC	2,0	Aa	2,0	Aa	1,9	Aa	1,9	Ab	2,0
	Média	1,9		1,9		2,0		2,0		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p < 0,05 cv = 2,83%								
20-40 cm	SC	2,0	ABb	2,1	Aa	1,9	Ba	2,0	Ab	2,0
	CC	2,2	Aa	2,2	Aa	1,8	Bb	2,2	Aa	2,1
	Média	2,1		2,2		1,8		2,1		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p < 0,05 cv = 2,70%								

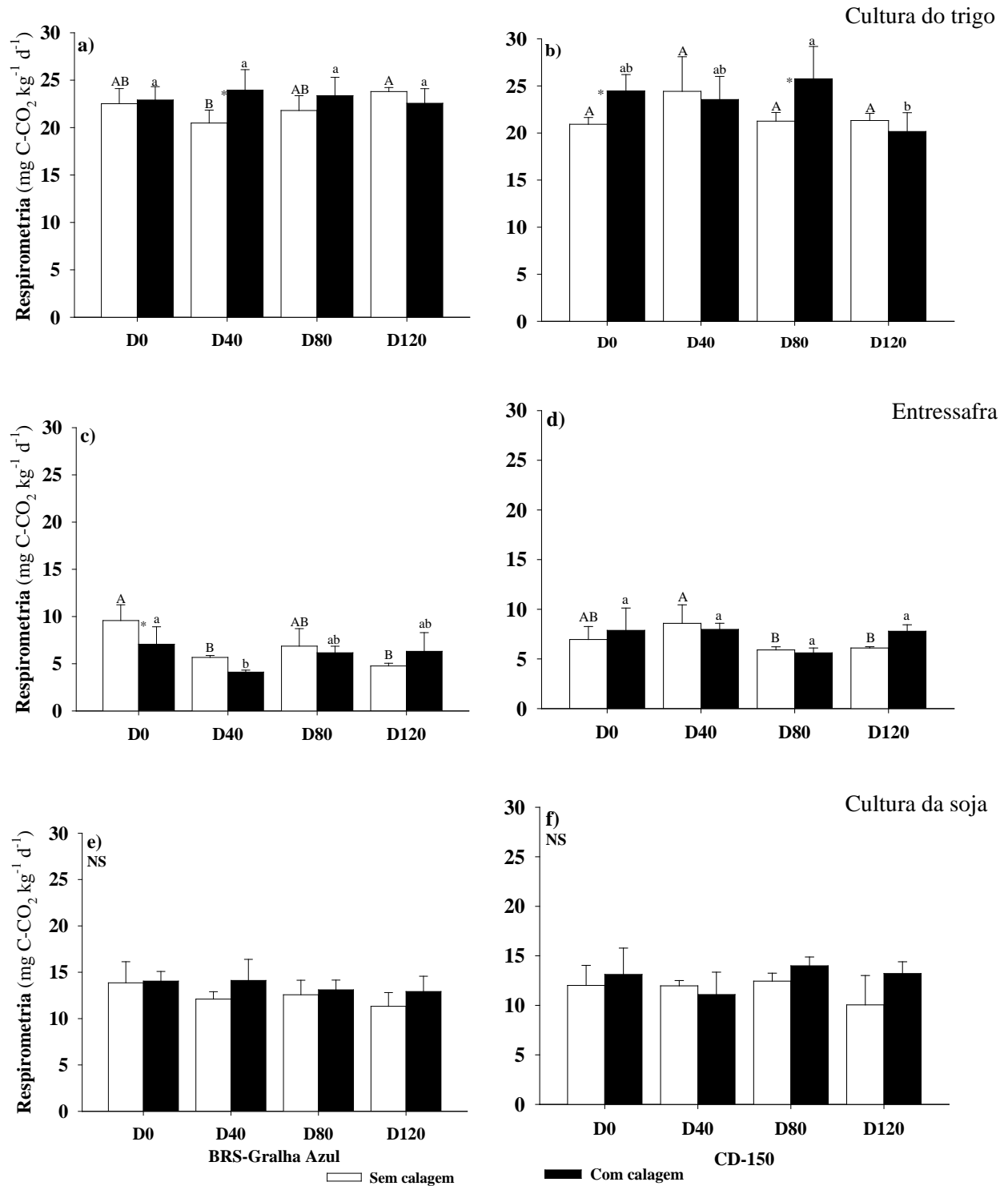
Tabela 4.4: Efeito da adubação nitrogenada (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura) aplicada à cultura do trigo (cv. CD 150), com e sem calagem, sobre o teor de nitrogênio total (NT) no solo amostrado durante a cultura do trigo, entressafra e cultura da soja. Médias compartilhando letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre as doses de N; letras minúsculas comparam com (CC) e sem calagem (SC).

CD-150										
NOT										
.....g kg ⁻¹										
Cultivo de trigo										
00-10 cm		D0		D40		D80		D120		Média
	SC	2,2		2,3		2,1		2,2		2,2 a
	CC	2,2		2,2		2,2		2,2		2,2 b
	Média	2,2		2,2		2,2		2,2		
	Anava	Calagem (C); p < 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 1,99%								
10-20 cm										
	SC	2,1	Ba	2,1	Bb	2,2	ABa	2,3	Aa	2,2
	CC	2,2	Aa	2,3	Aa	2,3	Aa	2,0	Bb	2,2
	Média	2,2		2,2		2,2		2,2		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p < 0,05 cv = 5,09%								
20-40 cm										
	SC	2,1		2,2		2,1		2,4		2,2
	CC	2,1		2,1		2,1		2,0		2,1
	Média	2,1		2,1		2,1		2,2		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 3,49%								
Entressafra										
00-10 cm										
	SC	2,3		2,4		2,3		2,3		2,3
	CC	2,3		2,4		2,2		2,3		2,3
	Média	2,3		2,4		2,2		2,3		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p < 0,05 cv = 3,25%								
10-20 cm										
	SC	2,1		2,1		2,2		2,2		2,2
	CC	2,2		2,1		2,2		2,1		2,1
	Média	2,1		2,1		2,2		2,2		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 2,8%								
20-40 cm										
	SC	2,0	Ba	2,1	ABa	2,1	ABa	2,1	Aa	2,1
	CC	1,9	Ba	2,1	Aa	1,9	Bb	2,1	Aa	2,0
	Média	2,0		2,1		2,0		2,1		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 3,83%								
Cultivo da soja										
00-10 cm										
	SC	2,2	Aa	1,4	Ca	1,4	Ca	2,0	Ba	1,7
	CC	2,1	ABa	1,9	Ca	2,1	Aa	1,9	BCa	2,0
	Média	2,1		1,6		1,8		2,0		
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p < 0,05 cv = 4,59%								
10-20 cm										
	SC	1,9		2,2		2,0		2,1		2,0
	CC	1,9		2,0		2,0		2,1		2,0
	Média	1,9	C	2,1	A	2,0	BC	2,1	AB	
	Anava	Calagem (C); p < 0,05 Dose (D); p > 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 2,48%								
20-40 cm										
	SC	2,0		2,0		2,1		2,1		2,1
	CC	2,2		2,2		2,3		2,1		2,2
	Média	2,1	B	2,1	AB	2,2	A	2,1	A	
	Anava	Calagem (C); p > 0,05 Dose (D); p < 0,05 CxD; p > 0,05 cv = 2,05%								

4.8 Respiração basal

A respiração basal na primeira amostragem não apresentou efeito evidente das doses de N, nem da realização ou não da calagem, para ambos genótipos de trigo (Figuras 4.12a e 4.12b). Na segunda amostragem, para o genótipo BRS Gralha Azul, os valores diminuíram do controle sem N para a dose 40 kg ha⁻¹ de N, com ou sem calagem (Figuras 4.12c e 4.12d). Para o genótipo CD-150, não houve efeito das doses de N na presença de calagem. Na ausência de calagem, maiores valores foram observados na dose 40 kg ha⁻¹ de N, em comparação com as demais doses. Na terceira amostragem, nenhum efeito dos tratamentos foi observado, independentemente do genótipo de trigo cultivado anteriormente (Figuras 4.12e e 4.12f).

Figura 4.12: Efeito da adubação nitrogenada (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura) aplicada à cultura do trigo (cv. BRS Galha Azul ou CD-150), com e sem calagem, sobre respiração basal do solo amostrado durante a cultura do trigo (a, b), entressafra (c, d) e cultura da soja 3 (e, f). Barras de erro em cada coluna representam o desvio-padrão da média; Médias compartilhando letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%; Letras maiúsculas comparam entre as doses de N sem calagem e letras minúsculas comparam entre as doses de N com calagem; * indica efeito significativo da calagem dentro da dose de N. NS = não significativo.



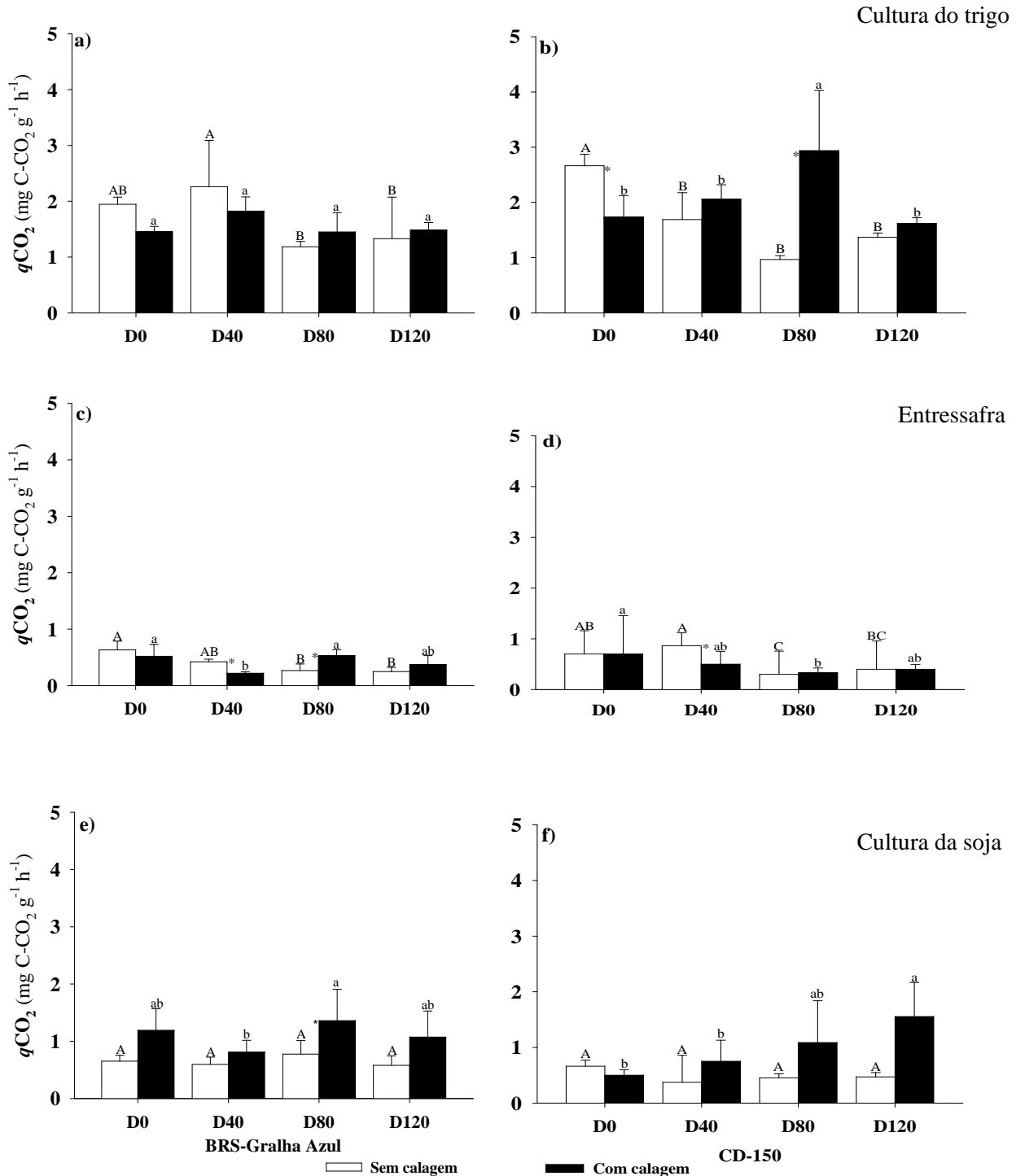
4.9 Quociente metabólico

Na primeira amostragem do solo cultivado com a cultivar BRS Gralha Azul (Figura 4.13a), o efeito das doses de N foi observado apenas na ausência de calagem. O valor mais elevado do quociente metabólico ocorreu no solo que recebeu 40 kg N ha^{-1} , com diminuição nas maiores doses de N. Na cultivar CD-150 (Figura 4.13b) os valores mais elevados do quociente metabólico foram nas doses 0 kg N ha^{-1} sem calagem e na dose 80 kg N ha^{-1} com calagem. Na dose 0 kg N ha^{-1} , a calagem diminuiu o $q\text{CO}_2$, enquanto que na dose 80 kg N ha^{-1} , a calagem aumentou esse índice.

Na segunda amostragem foram observados os valores mais baixos de $q\text{CO}_2$ entre as três amostragens. Para a cultivar BRS Gralha Azul (Figura 4.13c) na ausência de calagem o tratamento dose 0 kg N ha^{-1} apresentou maior valor, que diminuiu com o aumento das doses de N. No solo cultivado com a cultivar CD-150 (Figura 4.13d) também houve diminuição, independente da realização ou não da calagem.

Na terceira amostragem, para BRS Gralha Azul (Figura 4.13e) não houve efeito de doses de N no solo que não recebeu calagem, enquanto que na área com calagem houve aumento do $q\text{CO}_2$ na dose 80 kg N ha^{-1} . Para CD150 (Figura 4.13f), quando não houve realização da calagem, os valores de $q\text{CO}_2$ não variaram com as doses de N. Já na área que recebeu calagem, a atividade metabólica aumentou com as doses de N.

Figura 4.13: Efeito da adubação nitrogenada (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ em cobertura) aplicada à cultura do trigo (cv. BRS Gralha Azul ou CD-150), com e sem calagem, sobre o quociente metabólico (qCO_2) no solo amostrado durante a cultura do trigo (a, b), entressafra (c, d) e cultura da soja 3 (e, f). Barras de erro em cada coluna representam o desvio-padrão da média; Médias compartilhando letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%; Letras maiúsculas comparam entre as doses de N sem calagem e letras minúsculas comparam entre as doses de N com calagem; * indica efeito significativo da calagem dentro da dose de N.



4.10 Análise multivariada

Com base na análise canônica foi possível relacionar mais claramente os tratamentos que receberam ou não calagem, enquanto que o efeito das doses de N nem sempre foi claro. Na primeira amostragem, para a cultivar BRS Gralha Azul (Figura 4.14a), o primeiro eixo da componente principal explicou 39,8%, enquanto o segundo eixo explicou 26% da variação. As áreas com calagem nas doses de N (40, 80 e 120 kg N ha⁻¹) correlacionaram-se positivamente com as variáveis de produção do trigo, respiração basal do solo, NBM e o nitrogênio na folha bandeira. O tratamento controle sem N, com ou sem calagem, foi associado ao NT e N-NH₄⁺. Nota-se correlação positiva das variáveis CBM e C/N com os tratamentos sem calagem nas doses 80 e 120 kg N ha⁻¹ de N. Para a cultivar CD-150 (4.14b), o primeiro eixo explicou 54,6% e o segundo eixo explicou 23,3% da variação. As variáveis N-NO₃⁻, celulase, CBM e C/N apresentaram correlação positiva com os tratamentos sem calagem e com as maiores doses de N (80 e 120 kg N ha⁻¹). Já as variáveis NT na folha bandeira e CBM apresentaram correlação positiva entre si.

Na segunda amostragem (Figura 4.15a), para a cultivar BRS Gralha Azul, o primeiro eixo da componente principal explicou 50,9% e o segundo eixo explicou 35,5% da variação. A parte positiva do eixo 1 apresentou maior correlação com calagem nas doses 0, 80 e 120 kg N ha⁻¹, estando relacionada à relação C/N da biomassa microbiana. Já a porção negativa do eixo apresentou maior correlação com as áreas sem calagem nas doses 0, 40 e 80 kg N ha⁻¹ e com calagem na dose 40 kg N ha⁻¹ com as variáveis NBM, amônio e nitrato, respiração basal, *q*CO₂ e NT. Na cultivar CD-150 (Figura 4.15b) o eixo 1 explicou 60,6% e o eixo 2 explicou 23,9% da variação. A porção positiva do eixo 1 mostrou maior correlação com a ausência de calagem nas doses 0, 40 e 120 kg N ha⁻¹ e com calagem na dose 0 kg N ha⁻¹, que se relacionaram com variáveis COT, NT, teores de amônio e nitrato, as enzimas desidrogenase e celulase, respiração basal do solo e *q*CO₂. Quanto à porção negativa, esta apresentou maior correlação com os tratamentos com calagem nas doses 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ e sem calagem na dose 80 kg ha⁻¹ de N, os quais foram relacionados com as variáveis NBM, CBM, C/N da biomassa microbiana, glutaminase e pH. Entretanto, não houve uma tendência clara do efeito dos tratamentos sobre as variáveis.

Na terceira amostragem, sob cultivo de soja após BRS Gralha Azul (Figura 4.16a), o primeiro eixo da componente principal explicou 66,1% e o segundo eixo explicou 15,8% da variação. Os tratamentos sem e com calagem se posicionaram do lado negativo e positivo do eixo

1, respectivamente, enquanto que as doses de N se posicionaram de forma crescente ao longo do eixo 2. A realização da calagem se correlacionou com as variáveis massa seca dos nódulos, respiração basal, $q\text{CO}_2$, produção da soja, celulase, teor de N na planta, que por sua vez se relacionaram com as variáveis ambientais pH, P, SB, CTC e NT. Já a não realização de calagem foi associada às variáveis glutaminase, teor de nitrato, CBM e C/N da biomassa microbiana. Já o efeito das doses de N foi inversamente relacionado com o COT, pH e P disponível. No cultivo de soja após o genótipo CD 150 (Figura 4.16b), a análise de multivariada explicou 35,8% da variação no eixo 1 e 26,0% no eixo 2. A porção negativa do eixo 1 foi mais relacionada à ausência de calagem, mas sem forte relação com as variáveis. Já a porção positiva do eixo 1 foi relacionada à realização de calagem, que por sua vez favoreceu a respiração basal, celulase, nodulação (massa e número), produtividade da soja, e também as variáveis ambientais pH, SB e CTC. Já as doses de N aplicadas ao trigo não indicaram efeito claro sobre as variáveis avaliadas durante o cultivo da soja.

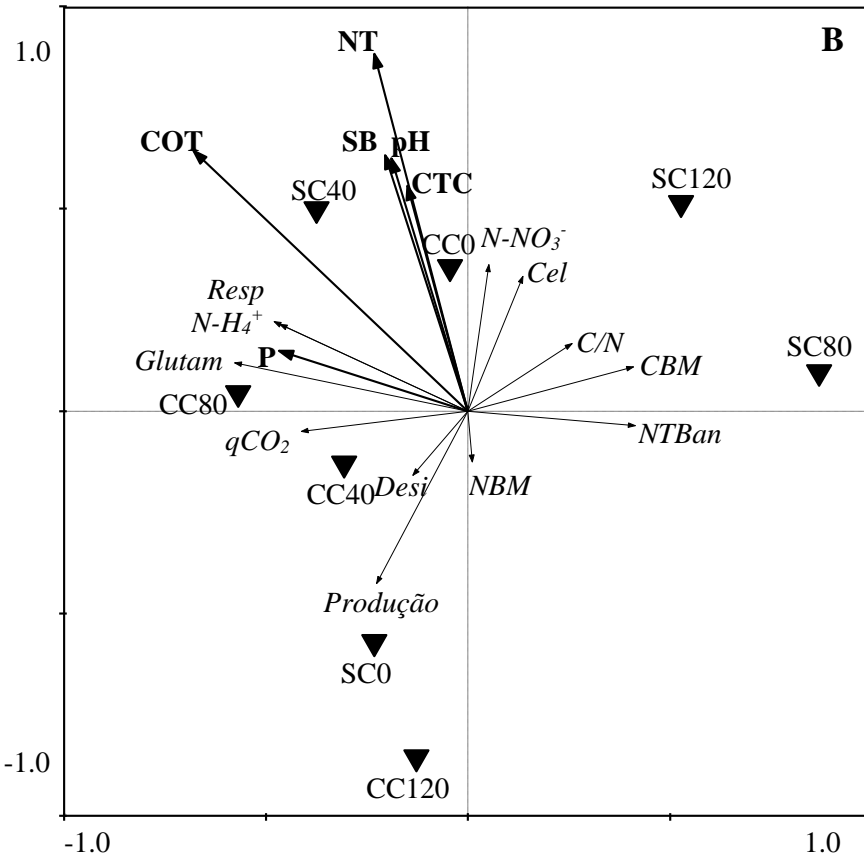
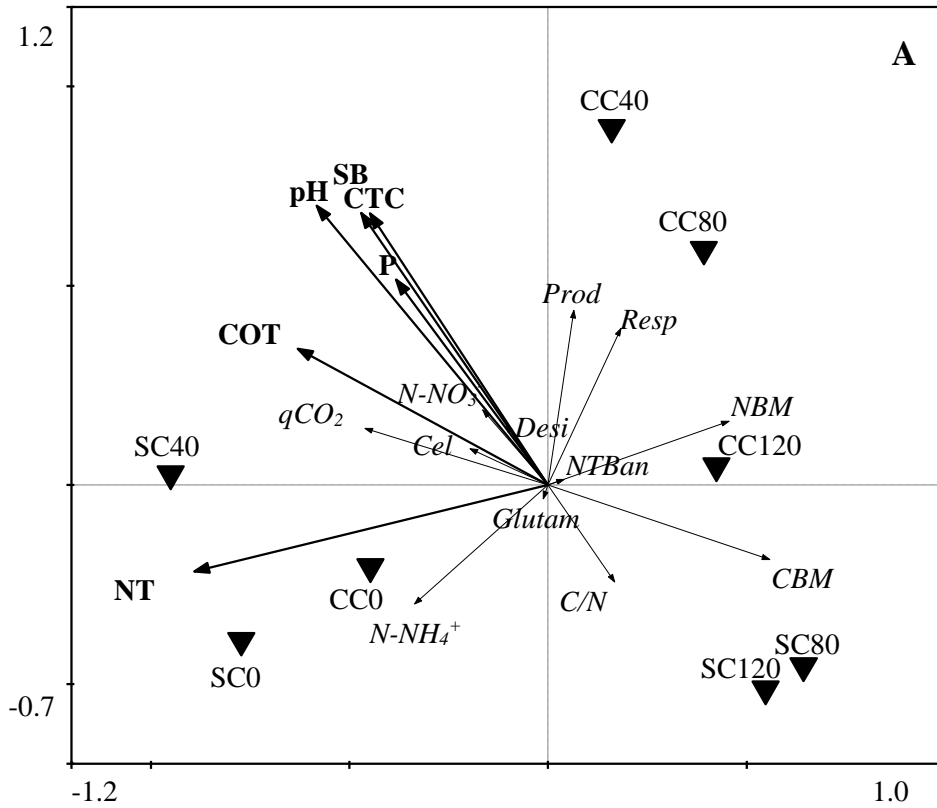


Figura 4.14: Análise canônica baseada nas variáveis [nitrogênio total folha bandeira (NTBan), produtividade do trigo (Prod), Carbono da biomassa microbiana (CBM), Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), amônio ($N-NH_4^+$), nitrato ($N-NO_3^-$), celulase (Cel), desidrogenase (Desi), glutaminase (Glutam), quociente metabólico (qCO_2), respiração basal do solo (Resp), relação C/N da biomassa microbiana (C/N)], variáveis ambientais [pH, carbono orgânico total (COT), nitrogênio total (NT), soma de bases (SB), capacidade de troca catiônica (CTC), fósforo (P)] e tratamentos [sem e com calagem com doses de N (SC0, SC40, SC80 e SC120; CC0, CC40, CC80 e CC120)] em solo cultivado com duas variedades de trigo [(BRS Gralha Azul (A) e CD-150 (B)]. Amostragem durante o cultivo de trigo.

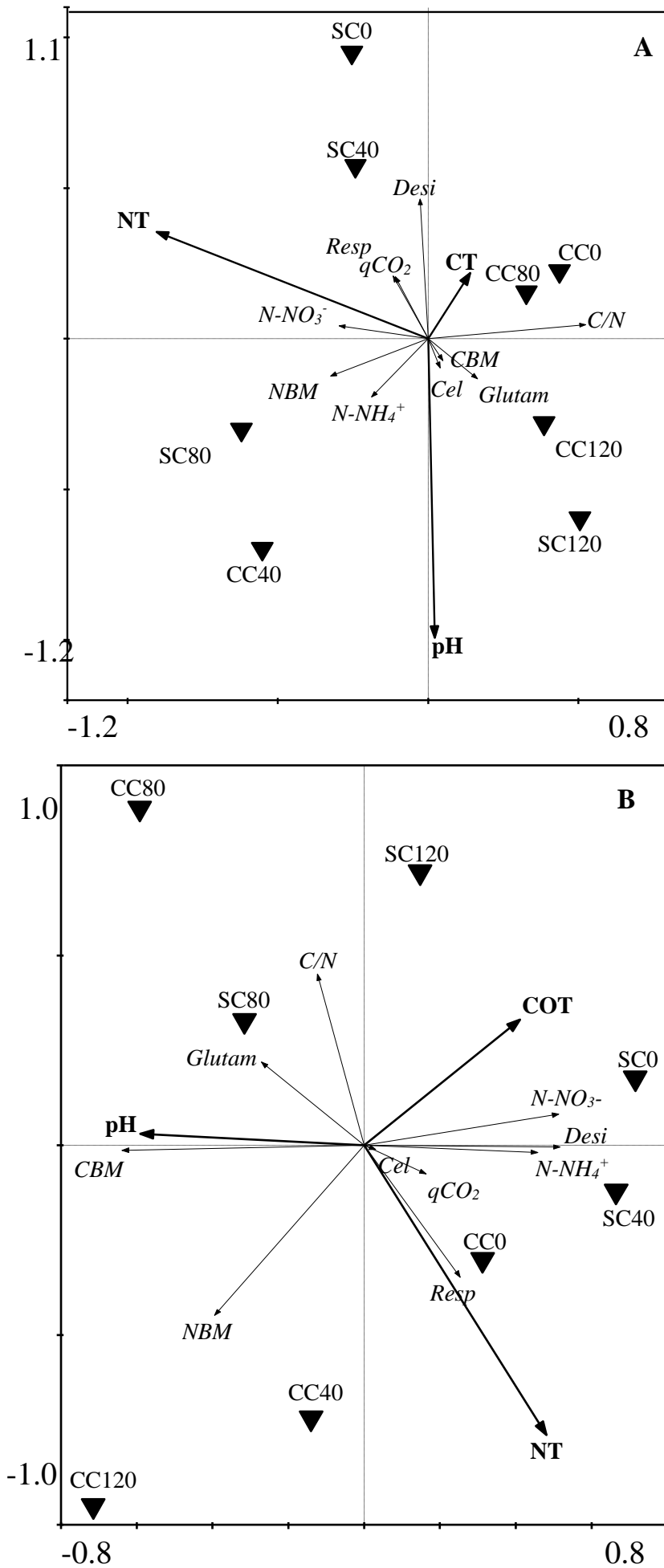


Figura 4.15: Análise canônica baseada nas variáveis explicativas [(Carbono da biomassa microbiana (CBM), Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), amônio ($N-NH_4^+$), nitrato ($N-NO_3^-$), celulase (Cel), desidrogenase (Desi), glutaminase (Glutam), quociente metabólico (qCO_2), respiração basal do solo (Resp), relação C/N da biomassa microbiana (C/N)], variáveis ambientais [(carbono orgânico total (COT), nitrogênio orgânico total (NT)] e tratamentos [sem e com calagem com diferentes doses de N (SC0, SC40, SC80 e SC120; CC0, CC40, CC80 e CC120)] em solo cultivado com duas variedades de trigo [BRS Galha Azul (A) e CD-150 (B)]. Amostragem durante a entressafra.

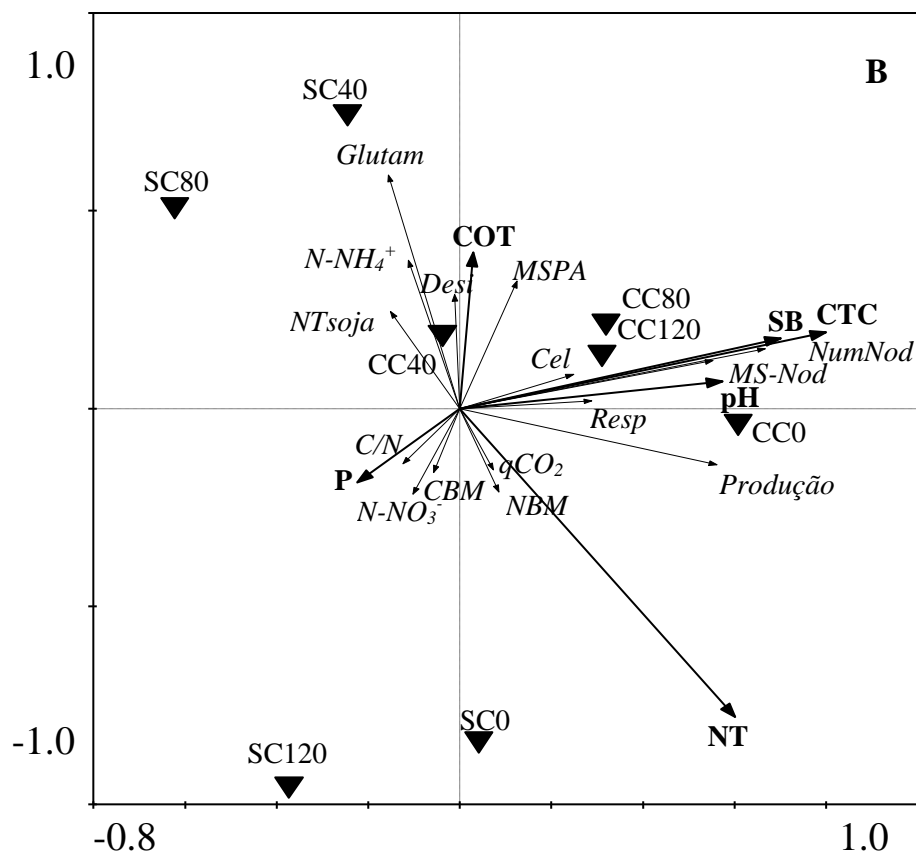
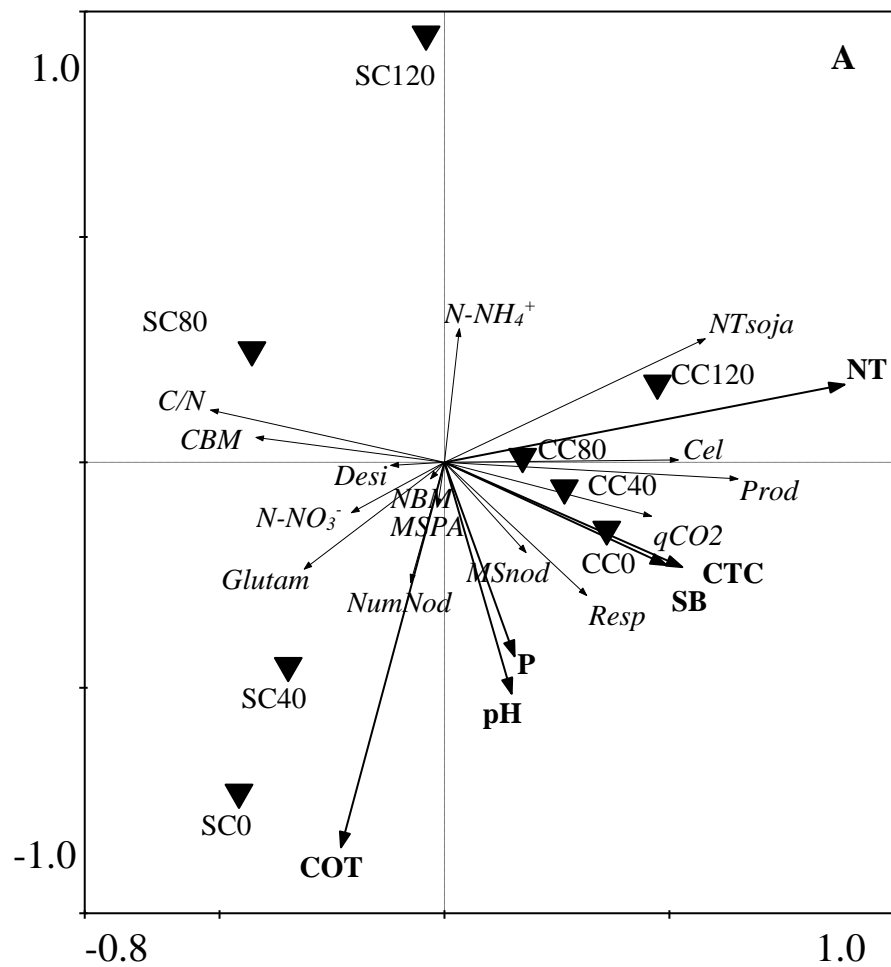


Figura 4.16: Análise canônica baseada nas variáveis explicativas [massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca do nódulo (MSnod), número de nódulos (NumNod), nitrogênio total na soja (NTsoja), produtividade da soja (Prod), Carbono da biomassa microbiana (CBM), Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), Taxa de amonificação ($N-NH_4^+$), taxa de nitrificação ($N-NO_3^-$), celulase (Cel), desidrogenase (Desi), glutaminase (Glutam), quociente metabólico (qCO_2), respiração basal do solo (Resp), relação C/N da biomassa microbiana (C/N)] variáveis ambientais [pH, carbono orgânico total (COT), nitrogênio total (NT), soma de base (SB), capacidade de troca catiônica (CTC), fósforo (P)] e tratamentos [sem e com calagem com doses de N (SC0, SC40, SC80 e SC120; CC0, CC40, CC80 e CC120)] em solo cultivado com duas variedades de trigo [(BRS Galha Azul (A) e CD-150 (B)]. Amostragem durante o cultivo de soja.

5. DISCUSSÃO

Resultados anteriores às avaliações realizadas nesse ensaio indicaram respostas de produtividade da soja ao N aplicado à cultura do trigo cultivado previamente (FOLONI, comunicação pessoal). Como o N mineral é altamente dinâmico no solo (ROBERTSON; GROFFMAN, 2007), não seria esperado que o fertilizante nitrogenado aplicado à cultura do trigo tivesse um efeito residual na cultura da soja. Uma hipótese mais plausível para esse efeito seriam efeitos indiretos, por meio dos quais parte do N aplicado ao trigo poderia permanecer no sistema de produção (RANGEL; SILVA, 2007) inicialmente imobilizado na palhada do trigo e posteriormente mineralizado e eventualmente vindo a promover algum efeito na cultura da soja cultivada em sucessão. Outra possibilidade seria o efeito do N aplicado ao trigo aumentando a biomassa das plantas de trigo, resultando em maior disponibilidade de resíduos vegetais, seja parte aérea, sejam raízes, contribuindo para melhorias nas propriedades do solo, o que refletiriam em melhores condições de solo para a produtividade de soja. Por sua vez, esses efeitos podem ser modulados pela resposta da cultivar de trigo à adição do N mineral e estes influenciados pelo pH do solo alterado pela calagem.

A cultivar de trigo BRS Galha Azul é considerada menos responsiva à adubação nitrogenada (FOLONI e BASSOI, 2015), enquanto a cultivar CD 150 é considerada mais responsiva. Essa diferença varietal quanto à resposta ao N poderia influenciar na quantidade absorvida e exportada pela planta e, conseqüentemente, influenciar na dinâmica do N no solo. Entretanto, tanto a adubação nitrogenada quanto a calagem não influenciaram significativamente a produção de palhada pelos dois genótipos de trigo, o que descarta a hipótese de o efeito na soja ser devido ao maior aporte de palhada ao solo. Já o N na palhada do trigo aumentou com as doses de N no genótipo BRS Galha Azul. Esse efeito poderia vir a influenciar a soja em sucessão, visto que o N na palhada, uma vez mineralizado pela ação microbiana, pode beneficiar a cultura (SIQUEIRA NETO et al., 2010; GEISSELER; SCOW, 2014).

Apesar de as doses de N não terem influenciado significativamente a produtividade de grãos de trigo ou de soja, houve aumento nos teores de N foliar na soja, especialmente quando realizada a calagem. Parte desse aumento é atribuível ao N remanescente na palhada da cultivar BRS Galha Azul, mas no caso da soja cultivada após a cultivar CD 150, esse aumento do N foliar na soja foi proveniente de outros estoques de N no solo, já que não houve efeito das doses de N no

teor de N na palhada desse genótipo. O conjunto de avaliações realizadas com bases em processos microbiológicos e bioquímicos relacionados à ciclagem do N no solo pode auxiliar a explicar o aumento do teor de N na soja (FAGOTTI et al., 2012; BINI et al., 2014). Resultado semelhante foi encontrado por Teixeira et al. (2010), em que a adubação nitrogenada promoveu o aumento do teor de N foliar não só no trigo, mas também na soja cultivada em sucessão. Parte do N aplicado ao trigo pode ter sido utilizado pela soja cultivada em sucessão, embora não resultasse em aumento da biomassa da parte aérea e da produtividade de grãos nesta safra. Nem o trigo nem a soja responderam à aplicação do nitrogênio no trigo, embora houvesse resposta significativa à calagem. Theago et al. (2014) avaliaram diferentes fertilizantes nitrogenados e também não encontraram efeito significativo na produtividade de grãos do trigo.

Apesar de a matéria orgânica representar o maior estoque de N no solo, sua disponibilização às plantas depende da taxa de mineralização, processo realizado por microrganismos por meio de seu aparato enzimático. Por sua vez, o N contido na biomassa microbiana é mais facilmente mineralizado do que o N da matéria orgânica (NOGUEIRA et al., 2006; FAGOTTI et al., 2012). Assim, condições que favoreçam ao aumento da biomassa microbiana do solo são potencialmente mais favoráveis à disponibilização de nutrientes, seja por meio de sua maior atividade atuando na mineralização das formas orgânicas, seja por armazenar os nutrientes e protegê-los de perdas, como lixiviação e desnitrificação no caso do N (SCHUSTER; SCHRODER, 1990; MATOSO et al., 2012; ROBERTSON; GROFFMAN, 2007). Nesse ensaio, as doses de N aplicadas ao trigo aumentaram o N da biomassa microbiana, principalmente quando realizada a calagem. Esse efeito foi mais evidente na amostragem realizada durante a cultura do trigo e tornou-se menos evidente nas demais amostragens. Por sua vez, o carbono da biomassa microbiana também foi favorecido pelas doses de N aplicadas à cultura do trigo na primeira amostragem, principalmente quando não foi realizada a calagem. Entretanto, a realização de calagem diminuiu o efeito das doses de N. Efeitos mais evidentes na primeira amostragem são coerentes com a maior proximidade da adubação nitrogenada aplicada à cultura do trigo, com maiores chances de influenciar a comunidade microbiana do solo. Esse efeito pode se dar diretamente sobre os microrganismos, pela disponibilidade de nutrientes, salinidade, pH, bem como decorrentes de efeitos na planta, como o maior aporte de substratos para o crescimento microbiano (NOGUEIRA et al., 2014).

Na amostragem realizada durante a cultura da soja, o efeito das doses de N sobre a biomassa microbiana não foi claro, mas a calagem diminuiu o C da biomassa microbiana no solo cultivado com BRS Gralha Azul e aumentou no solo cultivado com CD-150, exceto na maior dose de N. Essa variação reflete a grande complexidade de fatores edáficos que influenciam a comunidade microbiana do solo e o seu efeito sobre as plantas cultivadas (FERREIRA et al., 2007). Embora grande parte dos trabalhos enfatize o efeito do aporte de material orgânico sobre a microbiota do solo (PEREZ et al., 2004; CHOUDHURY et al., 2014), o efeito de fertilizantes e corretivos também altera a comunidade microbiana (GEISSELER; SCOW, 2014). O carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana se mostraram mais sensíveis aos efeitos da calagem e da adubação nitrogenada do que os teores de carbono e nitrogênio totais do solo (NOGUEIRA et al., 2014). Assim, frações mais lábeis do carbono e o nitrogênio do solo são indicadas para acompanhar variações no curto prazo, enquanto que frações mais estáveis são mais importantes para avaliar variações no longo prazo.

Além do efeito na biomassa microbiana do solo, a adubação nitrogenada e a calagem tiveram efeito nas taxas de amonificação e nitrificação. Entretanto, a magnitude desses efeitos variou com as épocas de amostragem e com o genótipo de trigo cultivado. A amonificação é resultante da ação microbiana sobre as frações orgânicas do nitrogênio do solo, convertendo-o a amônia, que em seguida é convertida a amônio (INSAM et al., 1996) e indica o potencial de fornecimento de nitrogênio às plantas pelo solo a partir de suas reservas orgânicas (FAGOTTI et al., 2012). As doses de N aplicadas ao trigo tiveram efeito mais evidente sobre a taxa de amonificação do que a calagem, mesmo nas amostragens realizadas na entressafra e durante o cultivo da soja. Embora os resultados entre as amostragens não tenham sido comparados, os menores valores foram observados durante os cultivos do trigo e da soja. Neste último, vários valores negativos foram obtidos, sugerindo imobilização do nitrogênio amoniacal. A imobilização de N no solo é realizada, além das plantas, também pela comunidade microbiana (ROBERTSON; GROFFMAN, 2007). Como a análise é realizada sem a presença de plantas, esse efeito é atribuível à comunidade microbiana presente na amostra no momento da análise. Assim, a análise realizada na entressafra indica maior disponibilidade de substratos orgânicos potencialmente mineralizáveis pela comunidade microbiana, possivelmente provenientes dos resíduos culturais deixados no solo após o final do ciclo do trigo. Entretanto, houve efeito inibitório das doses de N a partir de 40 kg ha⁻¹ aplicados à cultura de trigo que antecedeu, sobretudo na presença de calagem.

A comunidade microbiana é estimulada pela disponibilidade de substrato, mas também pode ser inibida pelo produto, no caso N mineral. Nesse caso, não havia efeito significativo das doses de N aplicado ao trigo sobre o teor de N mineral (dados não apresentados), embora os efeitos da aplicação do N fertilizante durante o cultivo de trigo sobre a taxa de amonificação persistissem até a entressafra.

Embora efeitos de fertilizantes minerais sobre a comunidade microbiana sejam observados em longo prazo (GEISSELER; SCOW, 2014), os resultados aqui apresentados indicam efeitos de curto prazo. Quando se analisam processos mais específicos da mineralização do N do solo, representado pela atividade da glutaminase, na maioria dos casos há um aumento da atividade com as doses de N, seguido de decréscimo na maior dose. Como esse processo é dependente da produção de exoenzimas, em sua maioria provenientes da comunidade microbiana (BALOTA et al. 2013), a adição de N mineral ao trigo influenciou na atividade da enzima, efeito que permaneceu mesmo na amostragem realizada na cultura da soja. Entretanto, a maior variação foi observada entre as épocas de amostragem. A menor atividade na amostragem da entressafra decorre de condições menos favoráveis à comunidade microbiana, resultante da ausência de plantas associada a um período de baixa ocorrência de chuvas, assim como indicam os menores valores de respiração microbiana (CURTIN et al., 2000; ARAÚJO; MONTEIRO, 2007; SILVA et al., 2012). Já na avaliação realizada no verão, durante o cultivo da soja, a maior atividade da enzima é condizente com condições mais favoráveis à comunidade microbiana. Todavia, esse aumento não foi corroborado pela atividade microbiana avaliada pela respirometria do solo no verão, já que o maior valor foi encontrado na amostragem de inverno. Provavelmente a indução da produção da glutaminase não seja proporcional à atividade microbiana, o que explicaria a falta de relação entre atividade da enzima e a atividade microbiana nas amostragens de inverno, durante o trigo, e de verão, durante a soja.

Após a mineralização do N a amônio, essa forma de N pode ser rapidamente oxidada a nitrito e em seguida a nitrato pelos microrganismos nitrificadores, expondo-o à desnitrificação e à lixiviação, caso não seja imobilizado pelas plantas ou pela biomassa microbiana (ERGURDER et al., 2009; ROBERTSON; GROFFMAN, 2007). A taxa de nitrificação foi negativamente influenciada pelas doses de N, principalmente quando foi realizada a calagem, fato bastante evidenciado na primeira amostragem. Assim como a taxa de amonificação, espera-se um efeito mais evidente das doses de N aplicadas ao trigo nas amostragens mais próximas da aplicação.

Apesar de o efeito persistir na segunda e terceira amostragens, não foi claro na última. Sabe-se que a amônia é tóxica aos microrganismos nitrificadores (ERGURDER et al., 2009), o que é coerente com a diminuição da taxa de nitrificação com o aumento das doses de N na primeira amostragem. Considerando-se as épocas, as maiores taxas foram encontradas na amostragem da entressafra, o que sugere maior potencial de perdas de N no solo nesta fase. Essa situação é ainda mais agravada pela ausência de plantas capazes de imobilizar o N do solo e evitar que este fique sujeito aos processos de perdas já citados.

A adubação nitrogenada e a calagem podem influenciar os teores totais de carbono no solo (CURTIN et al., 2000). A adubação nitrogenada aplicada à cultura do trigo pode induzir a mineralização da matéria orgânica, disponibilizando N para a cultura cultivada na sequência, mas por sua vez diminui os teores de matéria orgânica no solo. Esse pode ser um dos motivos pelos quais a soja cultivada em sucessão ao trigo aparentemente se beneficia da adubação nitrogenada fornecida à cultura do trigo. A indução da mineralização da matéria orgânica do solo pode, em um primeiro momento, ser benéfica por disponibilizar nutrientes, mas por outro é preocupante, especialmente no ambiente tropical e subtropical, em que a matéria orgânica desempenha papel fundamental na fertilidade do solo (BAYER et al., 2004). Esse efeito foi observado em algumas profundidades e doses de N aplicadas ao trigo, mas não houve efeito consistente. Por outro lado, Siqueira Neto et al. (2010) mostraram que o uso de fertilizantes nitrogenados contribuiu para o acúmulo/aumento de matéria orgânica no solo devido ao maior aporte de resíduos vegetais pelas plantas que receberam o fertilizante. Entretanto, não houve efeito da adubação nitrogenada sobre a produção de palhada pelas plantas de trigo, que aliado ao fato de em alguns casos ter havido diminuição do teor de carbono orgânico do solo, faz aumentar a suspeita de que a adubação nitrogenada possa estar favorecendo a sua mineralização.

A atividade de enzimas relacionadas ao ciclo do carbono, como a celulase, permite inferir sobre efeitos na matéria orgânica do solo. Nesse caso, a atividade da celulase variou com o genótipo de trigo cultivado. A atividade aumentou com as doses de N na primeira amostragem no solo com a cultivar CD 150, mas diminuiu na segunda amostragem no solo cultivado com o genótipo BRS Gralha Azul. Nas demais amostragens, não houve efeito claro das doses de N. Em alguns casos a calagem aumentou a atividade enzimática, embora, a depender da dose de N, também houve redução da atividade. Não foi possível estabelecer uma relação entre a atividade da celulase e teores de C total no solo.

A análise global dos dados com base na análise canônica indica maior contribuição da calagem para a variabilidade dos dados. Entretanto, em alguns casos, dependendo do genótipo de trigo e da época de amostragem, observa-se uma clara relação das variáveis com as doses de N aplicadas à cultura do trigo. Na primeira amostragem, durante a cultura o trigo, houve claro efeito apenas da calagem sobre as variáveis, na área cultivada com o genótipo BRS Galha Azul. Esse comportamento indica que não apenas diferentes espécies de plantas, mas diferentes genótipos da mesma espécie podem influenciar diferencialmente as propriedades do solo. Na segunda amostragem, realizada na entressafra, os efeitos foram menos evidentes e não houve clara separação dos tratamentos. Entretanto, na terceira amostragem, realizada durante o cultivo da soja, os efeitos dos tratamentos aplicados ao trigo tornaram-se novamente evidentes, sobretudo no solo cultivado com o genótipo BRS Galha Azul. Nesse caso ficou claro o efeito da calagem favorecendo a produtividade da soja, que foram relacionados com o teor de N total na parte aérea, massa de nódulos e atividade da celulase, além da soma de bases, CTC e N total do solo. Para o genótipo CD-150, apesar de não haver efeito claro das doses de N, as variáveis associadas à realização da calagem foram basicamente as mesmas. A relação dessas variáveis com a realização da calagem indica melhoria não apenas do ambiente químico, mas também da qualidade microbiológica do solo, resultando em maior produtividade da soja (CORREA et al., 2007). Por sua vez, maiores teores de carbono orgânico total foram associados às menores doses de N no solo cultivado com BRS Galha Azul, o que reforça a hipótese de que a aplicação de N mineral favoreceu a mineralização da matéria orgânica do solo (CURTIN et al., 2000).

6. CONCLUSÕES

A adubação nitrogenada na cultura do trigo aumentou o teor de nitrogênio nas plantas de soja cultivadas em sucessão, mas sem resultar em aumento de massa de matéria seca e produtividade de grãos. Já a calagem aumentou a produtividade das duas culturas e, em geral, aumentou a atividade microbiológica e bioquímica na camada 0-10 cm, dependendo da adubação nitrogenada aplicada ao trigo e da época de amostragem.

REFERÊNCIAS

- ALBULQUERQUE, J. A.; SANGOI, L.; ENDER, M. Efeitos da integração lavoura-pecuárias propriedades físicas do solo e característica da cultura do milho. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, v. 25, p. 717-723, 2001.
- ALEF, K. Soil respiration. In: ALEF, K. e NANNIPIERI, P. *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. London: Academic Press, p. 214-219, 1995.
- ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D. Biomassa e atividade microbianas do solo sob influência de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 39, n.12, p.1191-1198, 2004.
- ANGHINONI, I.; CARVALHO, P. C. F.; COSTA, S. E. V. G. A. Tópicos em Ciência do Solo. In: Araújo, A. P.; Avelar, B. J. R., (Eds.) *Abordagem sistêmica do solo em sistemas integrados de produção agrícola e pecuária no subtropical brasileiro...* 8. ed. Viçosa: UFV, cap. 8, p. 221-278, 2013.
- ARAÚJO, A. S. F; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 66-75, 2007.
- ARAÚJO, L. A. N.; FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. Adubação nitrogenada na cultura do trigo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 39, n. 8, p. 771-777, agosto, 2004.
- BALOTA, E. L.; NOGUEIRA, M. A.; MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; FAGOTTI, D. S. L.; MELO, G. M. P.; SOUZA, R. C.; MELO, W. J. Enzimas e seu papel na qualidade do solo. *Tópicos em Ciência do Solo*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v 8, p. 189 – 249. 2013.
- BASHAN, Y.; BASHAN, L. E.; PRABHU, S. R.; HERNANDEZ, R. P. *Advances in plant growth-promoting bacteria and inoculant technology: formulation and practical perspectives (1998-2013)*. *Plant and Soil*, v. 378, p. 1-33, 2014.
- BAYER, C; MARTIM NETO, L.; MIELNICZUK, J.; PAVINATO, A. Armazenamento de carbono em frações lábeis da matéria orgânica de um Latossolo vermelho sob plantio direto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.39, n.7, p.677-683, jul. 2004.
- BINI, D.; SANTOS, C. A.; BERNAL, L. P. T.; ANDRADE, G.; NOGUEIRA, M. A. Identifying indicators of C and N cycling in a clayey Ultisol under different tillage and uses in winter. *Applied Soil Ecology*, v.76, p. 95-101, 2014.
- BOER, W.; KLEIN GUNNEWIEK, P. A.; LAANBROEK, H. J. Ammonium-oxidation a low pH a chemolithrotrophic bacterium belonging to the genus nitrosospira. *Soil Biology Biochemistry*, v. 27, n, 2, p. 127-132, 1995.

- BROOKES, P. C.; LANDMAN, A.; PRUDEN, G.; JENKINSON, D. S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 17, p. 837-842, 1985.
- CAIRES, E. F.; FELDHAUS, I. C.; BLUM, J. Crescimento radicular e nutrição da cevada em função da calagem e aplicação de gesso. *Bragantia*. v. 60, n. 3, p. 213-223, 2001.
- CANELLAS, L. P.; SANATOS, G. A.; RUMJANEK, V. M.; MORAES, A. A.; GURIDI, F. Distribuição da matéria orgânica e características de ácidos húmicos em solos com adição de resíduos de origem urbana. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1529-1538, 2001.
- CANFIELD, D.; GLAZER, A. N.; FALKOWSKI, P. G. The evolution and future of earth's nitrogen cycle. *Science*, v. 330, p. 192-196, 2010.
- CASIDA, L. E.; KLEIN, D. A.; SANTORO, T. Soil dehydrogenase activity. *Soil Science*, v. 98, p. 371-376, 1964.
- CHOUDHURY, S. G.; SRIVASTAVA, S.; SINGH, R.; CHAUDHARI, S. K.; SHARMA, D. K.; SINGH, S. K.; SARKAR, D. Tillage and residue management effects on soil aggregation, organic carbon dynamics and yield attribute in rice-wheat cropping system under reclaimed sodic soil. *Soil and Tillage Research*, v. 136, p. 76-83, 2014.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v. 2 – Safra 2014/15, n. 9 – Novo Levantamento, julho 2015.
- CORRÊA, J. C.; BÜLL, L. T.; CRUSCIOL, C. A. C.; MARCELINO, R.; MAUAD, M. Correção de acidez e mobilidade de íons em Latossolo com aplicação superficial de escória, lama cal, lodo de esgoto e calcário. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.42, n.9, p.1307-1317, 2007.
- CORREIA, N. M.; DURIGAN, J. C.; KLINK, U. P. Eficácia de herbicidas aplicados em pré-emergência na cultura da soja. *Bragantia*, Campinas, v.66, n.1, p.111-120, 2007.
- CUNHA, G. R.; HAAS, J.C.; MALUF, J. R. T.; CARAMORI, P. H.; ASSAD, E. D.; BRAGA, H. J.; ZULLO JUNIOR, J.; LAZZAROTTO, C. GONÇALVES, S.; WREGE, M.; BRUNETTA, D.; DOTTO, S. R.; PINTO, H.; BRUNINI, O.; THOMÉ, V. M. R.; ZAMPIERI, S. L.; PASINATO, A.; PIMENTEL, M. B. M.; PANDOLFO, C. Zoneamento agrícola e época de semeadura para trigo no Brasil. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, v.9, n.3, (Nº Especial: Zoneamento Agrícola), p.400-414, 2001.
- CUNHA, T. J. F.; MADARI, B. E.; BENITES, V. M; CANELLAS, L. P.; NOVOTNY, E. H.; MOUTTA, R. O.; TROMPOWYSK, P. M.; SANTOS, G. A. Fracionamento químico da matéria orgânica e características de ácidos húmicos de solos com horizontes antrópicos da Amazônia (Terra Preta). *Acta Amazônica*. v. 37 p. 91-98. 2007.

- CURTIN, D; WANG, H; SELLES, F; MCCONKEY, B. G; CAMPBELL, C. A. Tillage effects on carbon fluxes in continuous wheat and fallow-wheat rotations. *Soil Science Society of American Journal*, v. 64, p. 2080-2086, 2000.
- D'HOSE, T.; COUGNON, M.; DE VliegHER, A.; VANDECASTEELE, B.; VIAENE, N.; CORNELIS, W.; BOCKSTAELE, E. V.; REHEUL, D. The positive relationship between soil quality and crop production: A case study on the effect of farm compost application. *Applied Soil Ecology*, v. 75, p. 189-198, 2014.
- ERGURDER, T. H.; BOON, N.; WITTEBOLLE, L.; MARZORATI, M., VERSTRAET, W. Environmental factors shaping the ecological niches of ammonia-oxidizing archaea. *FEM Microbiology Review*, v. 33, p. 855-869, 2009.
- ERNANI, P. R. Disponibilidade de nitrogênio e adubação nitrogenada para a macieira. Lages: Graphel, p.76, 2003.
- FAGOTTI, D. S. L.; MIYAUCHI, M. Y. H.; OLIVEIRA, A. G.; SANTINONI, I. A.; EBERHARD, D. N.; NIMTZ, A.; RIBEIRO, R. A.; PAULA, A. M.; QUEIROZ, C. A. S.; ANDRADE, G.; ZANGARO, W.; NOGUEIRA, M. A. Gradients in N-cycling attributes along forestry and agricultural land-use systems are indicative of soil capacity for N supply. *Soil Use and Management*, v.28, p. 292–298, 2012.
- FERREIRA, A. P. Impactos de pesticidas na atividade microbiana do solo e sobre a saúde dos agricultores. *Revista Baiana de Saúde Pública*, v. 30, n. 2, p. 309, 2014.
- FERREIRA, D.F. SISVAR-Sistema de análise de variância. Versão 5.3. UFLA, Lavras, 2010.
- FERREIRA, E. A. B.; RESCK, D. V. S.; GOMES, A. C.; RAMOS, M. L. G. Dinâmica do carbono da biomassa microbiana em cinco épocas do ano em diferentes sistemas de manejo do solo no cerrado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 31, p. 1625-1635, 2007.
- FIDELIS, R. R.; ROCHA, R. N. C.; LEITE, U. T.; TANCREDI, F. D. Alguns aspectos do plantio direto para a cultura da soja. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v.19, n.1, p.23-31, 2003.
- FOLONI, J. S. S.; BASSOI, M. C. Indicações fitotécnicas para cultivares BRS de trigo no Paraná. *Circular técnica Embrapa Soja*, v. 110, p 1-15, 2015.
- FRANKENBERGER, W.T.; TABATABAI, M.A. *Soil Biology and Biochemistry*, v.23 (9), p.869-874, 1991.
- GASPARIN, E.; RICIERI, R. P.; SILVA, S. L.; DALLACORT, R.; GNOATTO, E. Temperatura no perfil do solo utilizando duas densidades de cobertura e solo nu. *Acta Scientiarum. Agronomy*. Maringá, v. 27, no. 1, p. 107-115, 2005.
- GEISSELER, D.; SCOW, K. M. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*, v 75, p. 54-63, 2014.

- HARA, F. A. S.; OLIVEIRA, L. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos de Iranduba, Amazonas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.40, n.7, p.667-672, 2005.
- HUNGRIA M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; CRISPINO, C. C.; MORAES, J. Z.; SIBALDELLI, R. N. R.; MENDES, I. C.; ARIHARA, J. Nitrogen nutrition, of soybean in Brazil: contributions of biological N₂ fixation and N fertilizer to grain yield. *Canadian Journal of Plant Science*, p. 927-939, 2006.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. *Embrapa Soja, Documentos*, 283, ISSN 1516-781, p. 13-80, 2007.
- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. *Biologly and Fertility of Soils*. v. 49, p. 791-801, 2013.
- INOUE, D.; PANG, J.; MATSUDA, M.; SEI, K.; NISHIDA, K.; IKE, M. Development of a whole community genome amplification-assisted DNA microarray method to detect functional genes involved in the nitrogen cycle. *World Journal Microbiology Biotechnology*, v. 30, p. 2907-2915, 2014.
- INSAM, H.; HUTCHINSON, T. C.; REBER, H. H. Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of soil microflora. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 28, p. 691-694, 1996.
- LIMA, E. D.; COELHO, F. C.; LIMA, A. A.; DORNELLES, M. S.; GARCIA, R. F. Semeadura direta de soja, sobre diferentes plantas de cobertura e manejos de palhada, na região Norte Fluminense. *Revista Ceres, Viçosa*, v. 56, n.6, p. 790-795, 2009.
- MATOSO, S. C. G.; SILVA, A. N.; FIORELLI-PEREIRA, E. C.; COLLETA, Q. P.; MAIA, E. Frações de carbono e nitrogênio de um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico sob diferentes usos na Amazônia Brasileira. *Acta Amazônica*, v. 42, n. 2, p 231-240, 2012.
- MENDES, I. C.; REIS-JUNIOR, F. B.; HUNGRIA, M.; SOUSA, D. M. G.; CAMPO, R. J. Adubação nitrogenada suplementar tardia e soja cultivada em Latossolo do Cerrado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.43, n.8, p.1053-1060, 2008.
- MIRANDA, K.M., ESPEY, M.G., WINK, D.A. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*, 5:62–71, 2001.
- MONTEIRO, R. T.; FRIGHETTO, R. T. S. III Determinação da umidade, pH e capacidade de retenção de água no solo. *Indicadores Biológicos e Bioquímicos da qualidade do solo. Manual Técnico / Embrapa Meio Ambiente*, ISSN 1516 – 4691, n.1, p. 37 – 44, 2000.
- MOREIRA, F. R.; DECHEN, S. C. F.; SILVA, A. P.; FIGUEIREDO, G. C.; CLERICE DE MARIA, I.; PESSONI, P. T. Intervalo hídrico ótimo em um Latossolo Vermelho cultivado em

- sistema semeadura direta por 25 anos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 38, p. 118-27, 2014.
- MORERIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Transformações bioquímica e ciclos dos elementos. *Microbiologia e Bioquímica do solo*. ISSN 85 – 87692, p. 285, 2002.
- MUMMEY, D. L.; STAHL, P. D.; BUYER, J. S. Microbial biomarkers as an indicator of ecosystem recovery following surface mine recalcitrant. *Applied Soil Ecology*, v. 21, p. 251-259, 2002.
- NOGUEIRA, M. N.; ALBINO, U. B.; BRANDÃO – JUNIOR, O.; BRAUN, G.; CRUZ, M. F.; DIAS, B. A.; DUARTE, R. T. D.; GIOPPO, N. M. R.; MENNA, P.; ORLANDI, J. M.; VIEIRA, F. P.; TOREZAN, J. M.D.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, G. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. v. 115, p. 237 – 247, 2006.
- PARTON, W. J.; SCHIMEL, D. S.; COLE, C. V.; OJIMA, D. S. Analysis of factors controlling soil organic matter levels in great plains grassland. *Soil Science Society of American Journal*, v. 51, p. 1173-1179, 1987.
- PEDRA, W.N. Matéria orgânica e decomposição de resíduos em Argissolo Vermelho Amarelo submetido a diferentes sistemas de manejo e culturas de sucessão, cultivado com milho. Dissertação. Universidade Federal de Sergipe, 2011.
- PEREZ, K. S. S.; RAMOS, M. L. G.; McMANUS, C. Carbono da biomassa microbiana em sol cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejos no Cerrado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 39, n. 6, p. 567-573, 2004.
- PÍPOLO, A. E.; CARNEIRO, G. E. S.; MELO, C. L. P.; LIMA, D.; FOLONI, J. S. S.; MIRANDA, L. M.; PETEK, M. R.; BORGES, R. S. Cultivares de soja. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Londrina, n. 1, v. 1, p. 1-60, 2015.
- RANGEL, O. J. P.; SILVA, C. A. Estoques de carbono e nitrogênio e frações orgânicas de Latossolo submetidos a diferentes sistemas de uso e manejo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 31, p. 1609-1623, 2007.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F. EICHHONR, S. E.; *Biologia Vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v.6, p.906, 2001,
- REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE. Informações técnicas para trigo e triticales – safra 2013. Londrina, PR: Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), p. 220, 2013.
- ROBERTSON, G. P.; GROFFMAN, P. M. Nitrogen transformation. *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry*. v. 3, p. 341, 2007.

- ROS, C. O.; SALET, R. L.; PORN, R. L.; MACHADO, J. N. C. Disponibilidade de nitrogênio e produtividade de milho com diferentes métodos de adubação no sistema de plantio direto. *Ciência Rural*, Santa Maria, ISSN 0103-8478, v. 33, n.5, p. 799-804, 2003.
- SANGOI, L.; ERNANI, P. R.; LECH, V. A.; RAMPAZZO, C. Volatilização de N-NH₃ em decorrência da forma de aplicação da uréia, manejo de resíduos e tipo de solo, em laboratório. *Ciência Rural*, Santa Maria, ISSN 0103-8478, v. 33, n.4, p. 687-692, 2003.
- SCHINNER, F.; VON MERSE, W. Xylanase-, CM-cellulase- and invertase activity in soil: an improved method. *Soil Biology & Biochemistry*, Oxford, v. 22, n. 4, p. 511-515, 1990.
- SCHUSTER, E.; SCHRODER, D. Side effects of sequentially applied pesticides on target soil microorganisms: field experiments. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 22 p. 67-373, 1990.
- SILVA, C. F.; PEREIRA, M. G.; MIGUEL, D. V.; FEITORA, J. C. F.; LOSS, A.; MENEZES, C. E. G. SILVA, E. M. R. Carbono orgânico total, biomassa microbiana e atividade enzimática do solo de áreas agrícolas, florestais e pastagem no médio Vale do Paraíba do Sul (RJ). *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 36, p. 1680-1689, 2012.
- SILVA, S. A.; ARF, O.; BUZZETTI, S.; SILVA, M. G. Fontes e épocas de aplicação de nitrogênio em trigo em sistema de plantio direto no cerrado. *Revista Brasileira de Ciências do solo*, v.32 p.2717-2722, 2008.
- SIQUEIRA NETO, M.; PICCOLO, M. C.; VENZKE FILHO, S. P.; FEIGL, B. J.; CERRI, C. C. Mineralização e desnitrificação do nitrogênio no solo sob sistema de plantio direto. *Divisão de Funcionamento de Ecossistemas Tropicais, Bragantia*, v. 69, n. 4, p. 923-936, 2010.
- SIQUEIRA NETO, M.; PICCOLO, M. C.; VENZKE FILHO, S. P.; FEIGL, B. J.; CERRI, C. C. Mineralização e desnitrificação do nitrogênio no solo sob sistema de plantio direto. *Divisão de Funcionamento de Ecossistemas Tropicais, Bragantia*, v. 69, n. 4, p. 923-936, 2010.
- SIX, J.; PAUSTIAN, K. Aggregate-associated soil organic matter as an ecosystem property and a measurement tool. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 68, p. A4-A9, 2014.
- SEARLE, P.L. The Berthelot or indophenol reaction and its use in the analytical chemistry of nitrogen. *Analyst* 109:549–568, 1984.
- SPERA, S. T.; SANTOS, H. P.; ESCOSTEGUY, P. A. V. Dispersão de argila em microagregados de solo incubado com calcário. *Revista Brasileira de Ciências do solo*, v. 32, p. 2613-2620, 2008.
- TEIXEIRA FILHO, M. C.; BUZZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; BENETT, C. G. S. Doses, fontes e épocas de aplicação de nitrogênio em trigo irrigado em plantio direto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 45, n. 8, p. 797-804, agosto, 2010.

- TER BRAAK, C.J.F.E; SIMIAUER, P. CANOCO. Reference Manual and User's Guide to Canoco for Windows: Software for Canonical Community Ordination (Version 4). Microcomputer Power, Ithaca, NY, p. 352, 1988.
- THEAGO, E. Q.; BUZETTI, S. TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; ANDREOTTI, M. MEGDA, M. M.; BENETT, C. G. S. Doses, fontes e épocas de aplicação de nitrogênio influenciando teores de clorofila e produtividade do trigo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 38, p. 1826-1835, 2014.
- VANCE, E. D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, v.19, p.703-707, 1987.
- WENDLING, A.; ELTZ, F. L. F.; CUBILLA, M. M.; AMADO, T. J. C.; MIELNICZUK, J.; LOVATO, T. Recomendação de adubação nitrogenada para trigo em sucessão ao milho e soja sob sistema de plantio direto no Paraguai. *Revista Brasileira de Ciência do solo*, v. 31, p. 985-994, 2007.
- WOHLENBERG, E. V.; REICHERT, J. M.; REINERT, D. J.; BLUME, E. Dinâmica da agregação de um solo franco-arenoso em cinco sistemas de culturas em rotação e em sucessão. Sessão VI manejo e conservação do solo e da água. *Revista Brasileira de Ciência do solo*, 28:891-900, 2004.
- ZOTARELLI, A.; LUGNANI, A. C.; O complexo agroindustrial da soja no Paraná: um estudo comparativo com o Centro-Oeste do Brasil. *Revista paranaense de Desenvolvimento*, Curitiba, n. 101, p. 33-51, 2001.