

**ABUNDÂNCIA NATURAL DE  $^{15}\text{N}$  E FORMAS DE NITROGÊNIO EM ARGISSOLO CULTIVADO COM EUCALIPTO E ACÁCIA**THE  $^{15}\text{N}$  NATURAL ABUNDANCE AND NITROGEN FORMS IN ULTISOL CULTIVATED WITH EUCALYPTUS AND ACACIARodinei Facco Pegoraro<sup>1</sup> Ivo Ribeiro da Silva<sup>2</sup> Roberto Ferreira de Novais<sup>2</sup> Nairam Felix de Barros<sup>3</sup>  
Reinaldo Bertola Cantarutti<sup>4</sup> Sebastião Fonseca<sup>5</sup>**RESUMO**

O nitrogênio é um dos nutrientes mais demandados pelas espécies vegetais, sua presença no solo, sob formas orgânicas ou minerais disponíveis para as plantas, está vinculada à qualidade e quantidade dos resíduos vegetais aportados ao solo. O estudo teve o objetivo de avaliar a influência do cultivo do eucalipto e da acácia na composição das formas orgânicas e inorgânicas de N e, na abundância natural de  $^{15}\text{N}$  em um Argissolo Amarelo. Para isso, foram coletadas amostras de solo e serapilheira em monocultivos do *Eucalyptus urograndis* (clone do *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake x *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Spreng) de ciclo curto (sete anos), sistemas de cultivo de rotação com acácia (*Acacia mangium* Willd.) após monocultivo de eucalipto, monocultivo de eucalipto de ciclo longo (24 anos) e mata nativa (Mata Atlântica) como condição original de solo do litoral Norte do Espírito do Santo. Foram avaliados os teores de C orgânico total, N total,  $\text{N-NH}_4^+$ ,  $\text{N-NO}_3^-$ , relação C/N, fracionamento do N orgânico e abundância natural de  $^{15}\text{N}$  no solo e serapilheira. Das formas de N-orgânico hidrolisado, o N-amino foi a fração que apresentou maior contribuição (39%), seguida pela fração de N-não identificado (27%), da fração N-amida (18%) e N-hexosamina (15%). O povoamento de acácia promoveu menor abundância natural de  $^{15}\text{N}$  e maiores teores de N total e C orgânico no solo e aumentou as formas orgânicas de N-hidrolisado, quando comparado àqueles de eucalipto de ciclo curto. Isso indica o aumento de formas lábeis de N orgânico no solo para as plantas e redução da humificação da matéria orgânica do solo (MOS) de acácia. Nesse sentido, a rotação de cultivos florestais com acácia após eucalipto de ciclo curto contribuiu para o aumento de formas orgânicas no solo, importantes para a nutrição de plantas, por serem potenciais fontes de nutrientes às plantas em curto período de tempo.

**Palavras-chave:** hidrólise ácida; nitrogênio orgânico; nitrogênio inorgânico; serapilheira.

**ABSTRACT**

The nutrients nitrogen and one of the most demanded by plant species, and its presence in soil under organic or mineral forms available to plants is linked to quality and quantity of plant residues added to the soil. The

1 Engenheiro Agrônomo, Dr., Professor do Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Avenida Universitária, 1.000. Bairro Universitário, CEP: 39.404-547, Montes Claros (MG). rodinei\_pegoraro@yahoo.com.br

2 Engenheiro Agrônomo, PhD., Professor do Departamento de Solos, Universidade Federal de Viçosa, Av. Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário, CEP 36570-000, Viçosa (MG). Bolsista do CNPq. ivosilva@ufv.br/rfnovais@ufv.br

3 Engenheiro Florestal, PhD., Professor do Departamento de Solos, Universidade Federal de Viçosa, Av. Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário, CEP 36570-000, Viçosa (MG). Bolsista do CNPq. nfbarrros@ufv.br

4 Engenheiro Agrônomo, Dr., Professor do Departamento de Solos, Universidade Federal de Viçosa, Av. Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário, CEP 36570-000, Viçosa (MG). Bolsista do CNPq. cantarutti@solos.ufv.br

5 Engenheiro Florestal, MSc., Pesquisador da Fibria Celulose S.A., Caixa Postal 331011, CEP 29197-000, Aracruz (ES). sf@fibria.com.br

study aimed to evaluate the influence of cultivation of eucalyptus and acacia in the composition of organic and inorganic N forms and the natural abundance of  $^{15}\text{N}$  in an Ultisol. For this, we collected soil and litter samples in continuous short-rotation eucalypt (*Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis* hybrid) (seven years) compared to a rotation system including acacia (*Acacia mangium* Willd.) after short-rotation eucalypt; and long-rotation eucalypt (24 years). A native vegetation (Atlantic Forest) was used as a reference for the original site condition representative for the northern coast of Espírito Santo state. To do so, we evaluated the content of total organic C, total N,  $\text{N-NH}_4^+$ ,  $\text{N-NO}_3^-$ , C/N ratio, fractionation of organic N and  $^{15}\text{N}$  natural abundance in soil and litter. Among the forms of organic-N hydrolyzed, the N-amino was the fraction with the highest contribution of organic N (39%), followed by the fraction of N-unidentified (27%), the fraction of N-amide (18%) and N-hexosamine (15%). The acacia plantation presented smaller natural abundance of  $^{15}\text{N}$  and higher levels of total N and soil organic C, and increased organic forms of N-hydrolyzed, when compared to the eucalyptus short-rotation soil. This indicates the increase of labile N-organic forms in the soil for the plants and reduction of humification of soil organic matter (SOM) of acacia. Thus, the crops rotation with acacia after eucalyptus contributed to the increase of organic forms in the soil, important for the nutrition of plants, because they are potential sources of nutrients to the plants in a short-time period.

**Keyword:** acid hydrolysis; organic nitrogen; inorganic nitrogen; litter.

## INTRODUÇÃO

O nitrogênio é um dos nutrientes mais abundantes nas camadas mais superficiais dos solos, mas, frequentemente, tem limitado o crescimento de plantas em vários ecossistemas por sua predominância em compostos nitrogenados orgânicos (N orgânico) não disponíveis ou pouco disponíveis (SCHULTEN e SCHNITZER, 1998; PRIETO-FERNÁNDEZ e CARBALLAS, 2000; NGUYEN e SHINDO, 2011). Ecossistemas agrícolas, em especial os ecossistemas florestais, nos quais o ciclo de crescimento é mais longo, o N orgânico é a principal fonte de N para as plantas, pois cerca de 95% do N total do solo se encontra na matéria orgânica (NGUYEN e SHINDO, 2011).

Plantas capazes de fixar  $\text{N}_2$  atmosférico, juntamente com a adoção de sistemas conservacionistas com menor revolvimento do solo pelo maior tempo de cultivo podem contribuir para o aumento de formas orgânicas lábeis e inorgânicas de N. A presença de compostos orgânicos nitrogenados no solo está intimamente associada à síntese de substâncias húmicas (STEVENSON, 1994; DIJKSTRA et al., 2004; MIKUTTA et al., 2010). Evidências sugerem que o aumento no teor de N do solo via fertilização ou fixação biológica e deposição de resíduos vegetais, também pode levar ao incremento dos estoques de MOS (MATZNER, 2002), pela maior produção de biomassa e estabilização do C no solo (HAGEDORN et al., 2003; SJÖBERG et al., 2004).

A deposição atmosférica de nitrogênio no

solo proveniente da lavagem das folhas da copa e tronco das árvores pela água da chuva tem grande relevância no ciclo biogeoquímico em florestas e plantações tropicais, de baixa fertilidade natural (LACLAU et al., 2003). A utilização de plantios florestais com leguminosas pode intensificar a deposição de N no solo, proveniente das chuvas. Segundo Balieiro et al. (2007), a utilização de *Acacia mangium* mostrou contribuição intermediária no conteúdo de nutrientes, entre eucalipto e a leguminosa guachapele (*Pseudosamanea guachapele* (Kunth) Harms), no entanto, desviou 33,4% da precipitação incidente de escoamento pelo tronco, o que denota um caráter competitivo mais elevado na coleta de água e de nutrientes para o seu tronco, e, comparativamente ao povoamento de eucalipto puro, a cultura mista com guachapele e eucalipto intensificou a N por lixiviação da copa, indicando uma deposição média de 8,42 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de N no solo via água das chuvas, para uma precipitação média anual de 1.213 mm.

O fracionamento do N orgânico por meio de hidrólise possibilita a separação de formas de N lábeis do solo, como N-amida e N-amino (hidrolisáveis em meio ácido). No processo de mineralização, o N-amida e N-amino podem rapidamente ser sintetizados, liberando N inorgânico ( $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ ) à solução do solo. Porém, boa parte do N orgânico pode compor frações mais estáveis no solo, como as frações de N-não hidrolisadas e N-não identificadas (BREMNER, 1965; YONEBAYASHI e HATTORI, 1980).

A qualidade dos resíduos presentes na

serapilheira e o revolvimento do solo interferem diretamente na abundância de formas lábeis e estáveis (não hidrolisadas) do N no solo. Segundo Camargo et al. (1997) e Nguyen e Shindo (2011), variações na fração de N-não hidrolisado podem estar relacionadas ao manejo dos solos, pois quanto maior a intensidade de hidrólise das frações orgânicas do N no solo, maior será a presença de partículas mais finas passivas de formação de complexos argila-metal-húmus que constituem o N-não hidrolisado.

O grau de decomposição de compostos nitrogenados e humificação da MOS em solos submetidos a distintos cultivos florestais pode ser indicado pela abundância natural do  $^{15}\text{N}$  (LIAO et al., 2006). Notoriamente, o enriquecimento do  $d^{15}\text{N}$  no solo, indica maior grau de humificação da MOS (DIJKSTRA et al., 2004) e, menores teores de N orgânico (NADELHOFFER e FRY, 1988) e inorgânico (ESHETU e HÖGBERG, 2000) no solo. Nesta condição, perde-se maior conteúdo de  $^{14}\text{N}$  do solo por volatilização e lixiviação, em comparação ao isótopo  $^{15}\text{N}$ , considerado mais pesado (MAY e ATTIWILL, 2003), possibilitando o alargamento da relação  $^{15}\text{N}$  e  $^{14}\text{N}$  e redução na labilidade do N orgânico no solo para as plantas (TEMPLER et al., 2007).

A identificação e a quantificação das formas orgânicas de N e a abundância natural de  $^{15}\text{N}$  no solo podem auxiliar no entendimento dos processos que norteiam a disponibilização do N para as plantas e formação da MOS (YONEBAYASHI e HATTORI, 1980; CHOI et al., 2005). Nesse contexto, o estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a influência do cultivo do eucalipto e da acácia na composição das formas orgânicas e inorgânicas de N e, na abundância natural de  $^{15}\text{N}$  em um Argissolo Amarelo.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no município de Aracruz, em uma microbacia típica da região litorânea do Estado do Espírito Santo. O clima da região é Aw, segundo a classificação de Köppen (OMETTO, 1981), com verões chuvosos e invernos secos, com temperatura e precipitação média anual de  $23^{\circ}\text{C}$  e  $1.400\text{ mm ano}^{-1}$ , respectivamente. Foram selecionadas áreas de povoamentos de *Eucalyptus urograndis* (clone do *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake x *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Spreng) de longa rotação (24 anos-E24), *Eucalyptus urograndis*

em curta rotação (sete anos-E7) provenientes de mudas clonadas, já na quarta rotação, e *Acacia mangium* com 14 anos em rotação com o eucalipto e, uma área adjacente de mata nativa (Mata Atlântica), como referência de condição original de ecossistema. A seleção das áreas experimentais ocorreu em um raio de, aproximadamente 500 m de distância. O solo foi classificado como Argissolo Amarelo, fase Floresta Tropical Subprenifólia, textura média a argilosa, derivado do grupo Barreiras.

Previamente ao plantio, o solo foi preparado mediante gradagem (*bedding*), coveado e adubado com 100 g cova<sup>-1</sup> do formulado NPK 6-30-6. O plantio das mudas de eucalipto foi realizado manualmente em 1980 (E24) e 1996 (E7), com plantas clonais de *Eucalyptus urograndis*, cultivados em sistema de reforma e, espaçamento entre plantas de 3 m x 3 m.

O talhão de E24 foi desbastado ao longo dos anos até chegar ao espaçamento de 9 m x 9 m, no ano de 1996. No povoamento, há um sub-bosque que é controlado frequentemente por meio de roçada manual, uma vez por ano, no período do verão. Após 90 dias do plantio, os clones receberam  $350\text{ kg ha}^{-1}$  de fosfato natural e, no final do primeiro ano, mais  $160\text{ kg ha}^{-1}$  do formulado NPK 6-30-6. O plantio das mudas de *Acacia mangium* foi realizado como rotação ao cultivo de *Eucalyptus urograndis* no ano de 1987, após a área ter sido cultivada com eucalipto por duas rotações (14 anos), com manejo de adubação foi realizado com a utilização de 100 g cova<sup>-1</sup> do formulado NPK 6-30-6 no plantio,  $350\text{ kg ha}^{-1}$  de fosfato natural nos primeiros seis meses de plantio e  $160\text{ kg ha}^{-1}$  do formulado NPK 6-30-6 até o final dos 12 meses de plantio.

Nessas áreas, com diferentes tipos de uso, foram selecionados talhões de aproximadamente 10 ha, nos quais se coletaram três amostras compostas (três repetições) de solo na profundidade de 0-20 cm. Após a coleta, as amostras de solo foram secas ao ar, destorroadas, passadas em peneira com malha de 2 mm, homogeneizadas para caracterização física e química (Tabela 1), segundo EMBRAPA (1997). Para determinação do pH em  $\text{H}_2\text{O}$  foi observada a relação 1:2,5 de solo:solução; P e K disponíveis foram extraídos por meio da solução Mehlich 1 e quantificados, respectivamente, em Espectrofotômetro UV-VIS e Fotômetro de Chama;  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  trocáveis foram extraídos com solução KCl –  $1\text{ mol L}^{-1}$  e dosados em Espectrofotômetro de Absorção Atômica; a acidez potencial (H+Al) foi extraída com acetato de cálcio  $0,5\text{ mol L}^{-1}$  a pH 7,0 e, dosada por titulação com a solução hidróxido

TABELA 1: Características químicas e físicas do Argissolo Amarelo coletado nas áreas de mata nativa (MN), eucalipto de longa rotação (E24), acácia (A) e eucalipto de curta rotação (E7) na região litorânea do Estado do Espírito Santo, Brasil.

TABLE 1: Chemical and physical characteristics in Ultisol collected in the areas of native forest (NF), eucalyptus long-rotation (E24), acacia (A) and eucalyptus short rotation (E7) in the coastal region of Espírito Santo, Brazil.

Cultura	§pH	#Ca <sup>2+</sup>	#Mg <sup>2+</sup>	£H+Al	€P	€K	Areia grossa	Areia fina	Silte	Argila	Dens.
		-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----			---mg dm <sup>-3</sup> ---		-----%-----				kg dm <sup>-3</sup>
E24	4,8	0,84	0,36	0,68	2,3	21	53	16	4	27	1,4
MN	4,4	0,52	0,31	0,89	3,4	32	57	15	5	23	1,4
A	4,5	1,07	0,29	0,58	5,7	35	51	16	5	28	1,4
E7	4,7	0,98	0,19	2,90	4,2	19	53	19	3	25	1,5

Em que: § pH em H<sub>2</sub>O; # Extrator: KCl – 1 mol L<sup>-1</sup>; £ Extrator: Acetato de cálcio 0,5 mol L<sup>-1</sup> – pH 7,0; € Extrator: Mehlich 1.

de sódio 0,025 mol L<sup>-1</sup>; a textura do solo foi determinada pelo método da pipeta e a areia retida na peneira foi fracionada em areia fina (0,05–0,20 mm) e areia grossa (0,20–2,00 mm); e a densidade do solo foi determinada pelo Método do Anel Volumétrico, utilizando-se um anel (cilindro) com dimensões correspondentes a 50 mm de diâmetro e 2,65 mm de altura.

Foram coletadas de cada talhão, na profundidade de 0–20 cm, amostras indeformadas para determinação da densidade do solo, por meio do Método do Anel Volumétrico, utilizando-se um anel (cilindro) com dimensões correspondentes a 50 mm de diâmetro e 2,65 mm de altura.

A serapilheira na superfície do solo foi amostrada no momento da coleta das amostras de solo, da seguinte forma: dentro de cada área dos tratamentos selecionados foram identificados quatro pontos aleatoriamente, lançando-se um gabarito com 0,25 m<sup>2</sup> de área (0,5 m x 0,5 m). A serapilheira coletada era composta por galhos, cascas e folhas. No eucalipto de ciclo curto e na acácia, a coleta foi feita após o corte das árvores, ao final do ciclo. Posteriormente, as amostras de serapilheira foram secadas em estufa a 65°C durante 72 horas para determinação da massa de matéria seca: MN= 25,55 t ha<sup>-1</sup>; E24= 46,24 t ha<sup>-1</sup>; A=74,52 t ha<sup>-1</sup>; E7= 94,93 t ha<sup>-1</sup> e, para determinação da abundância natural de <sup>15</sup>N.

Em todas as amostras de solo coletadas efetuaram-se análises de carbono orgânico total (COT), nitrogênio total (NT), fracionamento do N orgânico, teor de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, abundância natural de <sup>15</sup>N nas amostras de solo, serrapilheira e do NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

### Determinação do carbono orgânico total e nitrogênio total do solo

Subamostras de solo (TFSA) foram trituradas e passadas em peneira de 100 *mesh* (0,149 mm) para determinação de COT por meio de oxidação via úmida, com aquecimento externo (YEOMANS e BREMNER, 1988). O NT foi determinado por destilação após digestão sulfúrica (BATAGLIA et al., 1983).

### Fracionamento do N orgânico

Foram usadas subamostras de terra fina seca ao ar (TFSA) contendo, aproximadamente, 10 mg de N para realização do fracionamento do N orgânico do solo via hidrólise ácida, conforme Yonebayashi e Hattori (1980), sendo realizado o deslocamento do NH<sub>4</sub><sup>+</sup> adsorvido ao solo por meio da adição de KCl 2,0 mol L<sup>-1</sup>. Com esse método foram obtidas as seguintes frações do N, em ordem decrescente de labilidade: N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; N-α-amino; N-hexosamina; N-amida; N-não identificado e N-não hidrolisado.

### Teores de amônio, nitrato e abundância natural de <sup>15</sup>N no solo e serapilheira

Para determinação do NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (N-inorgânico), adicionaram-se 20 g de subamostras de solo em tubos de centrífuga, juntamente com 25 mL de KCl 2,0 mol L<sup>-1</sup> (relação solo:solução de 1:1,25), seguindo-se de agitação por uma hora. A mistura foi filtrada utilizando filtro rápido e bomba de vácuo. No filtrado, foi determinado o NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, sendo o

$\text{NH}_4^+$  separado por destilação na presença de  $\text{MgO}$ . Logo em seguida, o  $\text{NO}_3^-$  foi separado por meio de destilação após adição de liga Devarda (CHOI et al., 2005). O  $\text{NH}_3$  volatilizado foi coletado em 5 mL de solução  $\text{HCl}$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  (BREMNER, 1965). A solução foi concentrada sob vácuo e, então diluída em 0,5 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  ultrapura. Desta solução, foram pipetados 200  $\mu\text{L}$  e transferidos para cápsulas de estanho e concentrados a temperatura de  $65^\circ\text{C}$  para dosagem dos teores de N por meio de espectrometria de massas de razão isotópica (IRMS) em fluxo contínuo (20-20 ANCA-GSL, Sercon, Crewe, UK). Para dosagem dos teores de N e  $d^{15}\text{N}$  por IRMS, as amostras de TFSA e serapilheira foram maceradas em almofariz de ágata e peneiradas (100 mesh). A composição isotópica do nitrogênio ( $d^{15}\text{N}$ ) foi calculada pela seguinte fórmula (CHOI et al., 2005):

$$\delta(\text{‰}) = \left( \frac{R_{\text{amostra}}}{R_{\text{standart}}} - 1 \right) \times 1000$$

Em que, R é a razão  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ . Os resultados de abundância natural de  $^{15}\text{N}$  ( $d^{15}\text{N}$ ) foram expressos em relação ao padrão de referência que foi o N atmosférico ( $d^{15}\text{N}=0$ ). Todos os resultados de teor de N inorgânico foram corrigidos para massa de solo seco ao ar.

### Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) no programa estatístico Saeg 5.0 (FUNARBE, 1993). O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados. O teste de comparação de médias adotado foi o LSD de Fisher ( $p < 0,05$ ) protegido (STEEL et al., 1997). Para isso, foram realizadas comparações múltiplas apenas quando o teste de F da análise de variância foi significativo ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

### Teores de carbono, nitrogênio e abundância natural de $^{15}\text{N}$ na serrapilheira, no solo e nas formas inorgânicas de N ( $\text{NH}_4^+$ e $\text{NO}_3^-$ )

O teor de N na serapilheira, no solo e o teor de C orgânico no solo foram incrementados com o cultivo de *Acacia mangium* em comparação aos monocultivos de eucalipto de ciclo curto (E7) e longo (E24) e, não diferiram daqueles obtidos na mata nativa. Tais resultados indicam a recuperação

dos teores médios de C orgânico e N total do solo de eucalipto quando submetido à rotação com *Acacia mangium* em comparação aos seus teores originais (mata nativa).

O maior teor de N na serapilheira de *Acacia mangium* também contribuiu para estreitamento da relação C/N em comparação àqueles cultivados com eucalipto e, os teores médios de N e C totais na serapilheira foram de 48,00 e 0,91  $\text{dag kg}^{-1}$ , respectivamente (Tabela 2). No solo, os teores de C orgânico total variaram de 13,86 a 23,46  $\text{g kg}^{-1}$  e, os de N de 0,30 a 0,81  $\text{g kg}^{-1}$  (Tabela 2).

No solo de eucalipto de ciclo curto obteve-se maior abundância natural de  $^{15}\text{N}$  (42), não diferindo daquele observado no cultivo de eucalipto de longa rotação (35) e mata nativa (31). Já o menor valor de  $d^{15}\text{N}$  foi obtido no solo de acácia (25), não diferindo daquele de eucalipto de longa rotação e mata nativa (Tabela 2), indicando que o cultivo de leguminosa arbórea (*Acacia mangium*), após monocultivo de eucalipto, reduz o grau de humificação da MOS e aumenta a ciclagem do N no solo, promovendo aumento da labilidade do N orgânico do solo para as plantas, conforme indicado por Templer et al. (2007).

A maior abundância natural de  $^{15}\text{N}$  verificada no solo cultivado com eucalipto de rotação curta indicou o avançado estágio de decomposição das frações do N no solo e esteve vinculado ao menor teor de N total, possivelmente, devido à menor qualidade dos resíduos de eucalipto aportados no solo (Tabela 2) e, maior utilização da MOS nativa pelos microrganismos decompositores. Outro fator que pode ter contribuído para ocorrência de maior valor de  $d^{15}\text{N}$  no solo cultivado com eucalipto de ciclo curto é a mobilização de solo em um menor período de tempo (a cada sete anos) em comparação aos demais tratamentos, o que pode ter estimulado a decomposição da matéria orgânica nativa pela microbiota do solo.

Os microrganismos decompositores têm importante papel no enriquecimento do  $^{15}\text{N}$  do solo, por participar diretamente na formação da MOS estabilizada (KRAMER et al., 2003; SIX et al., 2002). Estudos têm demonstrado a preferência microbiana pela utilização de  $^{14}\text{N}$  em detrimento do  $^{15}\text{N}$ , com isso, no processo de decomposição microbiana (nitrificação e desnitrificação), tem-se maior abundância de  $^{14}\text{N}$  nos produtos de sua atividade, e de  $^{15}\text{N}$  na matéria orgânica residual humificada em decorrência da sua menor utilização pelos microrganismos (PICCOLO et al., 1996;

TABELA 2: Teores de C orgânico e N total (dag kg<sup>-1</sup>), relação C/N e abundância natural de <sup>15</sup>N (‰) em amostras de serapilheira e solo (0-20 cm) coletado em áreas de povoamentos de eucalipto de curta (E7) e longa rotação (E24), floresta comercial de acácia (A) e mata nativa (MN).

TABLE 2: Soil organic carbon, total nitrogen (dag kg<sup>-1</sup>), C/N ratio and <sup>15</sup>N natural abundance (‰) in samples of litter and soil (0-20 cm) collected in areas of eucalyptus short (E7) and long rotation (E24), commercial forests of acacia (A) and native forest (NF).

	C orgânico	N total	C/N	δ <sup>15</sup> N
-----Serapilheira-----				
MN	48,56a	1,32a	41,63c	26,27a
E24	48,85a	0,58b	152,92a	16,32a
A	48,35a	1,13a	49,36c	21,57a
E7	46,91a	0,60b	116,32b	15,16a
-----Solo-----				
MN	20,60a	0,60ab	35,10a	30,81ab
E24	15,80b	0,30b	56,72a	35,00ab
A	23,46a	0,81a	29,09a	25,23b
E7	13,86b	0,37b/	37,81a	42,51a

Em que: Médias seguidas de letras minúsculas iguais entre os cultivos, na coluna, não diferem em nível de 5% pelo teste de DMS.

LEMMA e OLSSON, 2006).

O incremento de d<sup>15</sup>N na biomassa microbiana é reflexo do incremento gradativo do d<sup>15</sup>N na MOS após repetidos processos de humificação (KRAMER et al., 2003; DIJKSTRA et al., 2006). Isso é suportado pela relação positiva entre o grau de humificação (alifaticidade) e d<sup>15</sup>N da MOS (GOLCHIN et al., 1995). Situação semelhante foi encontrada por Liao et al. (2006), em que valores de d<sup>15</sup>N de frações físicas do solo correlacionaram-se positivamente com o tempo médio de residência no solo (TMRs), sugerindo que o aumento de d<sup>15</sup>N resultou em maior grau de humificação da MOS e menor abundância de frações lábeis de N no solo.

Além do aumento do grau de humificação da MOS, a maior abundância natural do <sup>15</sup>N no solo pode indicar redução no teor de N orgânico no solo (NADELHOFFER e FRY, 1988). Realmente, o solo cultivado com eucalipto de rotação curta teve a maior abundância natural de <sup>15</sup>N (Tabela 2) e os menores estoques de N-amida, N-hexosamina e N-amino da fração orgânica de N no solo, comparativamente, àquele cultivado com *Acacia mangium* (Figura 1).

Os solos cultivados e o solo de mata nativa não apresentaram diferenças significativas entre si (p > 0,05) para os teores de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N-inorgânico e abundância natural de <sup>15</sup>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, indicando que o solo de eucalipto apresenta disponibilidade similar de nitrato e N-inorgânico para as plantas em comparação ao solo de acácia e mata nativa, embora com menor teor de N total no

solo e serapilheira (Tabela 2), supondo redução no acúmulo de nitrogênio nas frações orgânicas do solo de eucalipto.

Os teores médios das formas de N inorgânico nos solos variaram de 7,2 a 10,3 mg kg<sup>-1</sup> para NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e de 5,0 a 9,7 mg kg<sup>-1</sup> para NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e, no solo de acácia e eucalipto de longa rotação verificaram-se as maiores proporções de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, com 56 e 55% do N inorgânico (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), respectivamente (Tabela 3), alcançando teores similares àquele encontrado no solo de mata nativa (10,3 mg kg<sup>-1</sup>). A maior porcentagem de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> nos solos de acácia, eucalipto de ciclo longo e mata nativa podem estar vinculados à maior ciclagem biogeoquímica do N, devido ao aumento do tempo de cultivo, de acordo com Balieiro et al. (2007), a lixiviação de nutrientes da copa das árvores e do tronco pela água da chuva é importante fonte de nutrientes para as plantas, pois pode contribuir com a adição anual de 11, 15 e 12 kg ha<sup>-1</sup> de N ao solo em cultivos de *Acacia mangium*, *Pseudosamanea guachapele* e *Eucalyptus grandis*, respectivamente, para uma precipitação média anual de 1.213 mm.

A abundância natural de <sup>15</sup>N no NO<sub>3</sub><sup>-</sup> do solo foi maior do que no NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (d<sup>15</sup>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: 18 e d<sup>15</sup>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: 11) (Tabela 3). Comumente, os valores de d<sup>15</sup>N no NH<sub>4</sub><sup>+</sup> são maiores que no NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, devido ao processo unidirecional de nitrificação, com discriminação preferencial do <sup>15</sup>N, fazendo com que haja maior abundância desse isótopo no NH<sub>4</sub><sup>+</sup> remanescente. No processo natural de nitrificarão

do N no solo, os microrganismos utilizam preferencialmente o isótopo mais leve  $^{14}\text{N}$  em detrimento do  $^{15}\text{N}$ , favorecendo o aumento da  $d^{15}\text{N}$  no  $\text{NH}_4^+$  do solo (CHOI et al., 2005), nesse sentido, o aumento da abundância natural do  $^{15}\text{N}$  no solo indica, principalmente, intensificação do processo de nitrificação.

O maior valor de  $d^{15}\text{N}$  no  $\text{NO}_3^-$  em comparação ao  $\text{NH}_4^+$  obtido no solo dos cultivos estudados (Tabela 3) sugere a presença de outras reações de enriquecimento de  $^{15}\text{N}$  no  $\text{NO}_3^-$ , tais como a desnitrificação (CHOI et al., 2002), que favorece as perdas por volatilização de  $\text{N}_2\text{O}$  e  $\text{N}_2$ , mais ricos em  $^{14}\text{N}$  (mais leve) (BODDEY et al., 2000). Adicionalmente, outros fatores podem alterar a presença de  $d^{15}\text{N}$  no  $\text{NO}_3^-$  e no  $\text{NH}_4^+$ , tais como a fonte de origem do N no solo e suas condições de aerobiose.

No solo de acácia e mata nativa foi observado maior valor de  $d^{15}\text{N}$  no  $\text{NH}_4^+$  em comparação ao solo de eucalipto (Tabela 3). Tal observação pode estar vinculada à intensificação da atividade microbiana responsável pelo processo de nitrificação do N no solo, propiciada pela maior disponibilidade do N, discriminando o  $^{15}\text{N}$  em favor do  $^{14}\text{N}$ , com isso o  $\text{NH}_4^+$  do solo cultivado com acácia e mata nativa tiveram maior abundância de  $^{15}\text{N}$ . Segundo Choi et al. (2005), a maior disponibilidade de N no solo pela adição de fertilizantes (N-uréia,  $d^{15}\text{N} = -2,7\%$ , P, K, Ca, Mg, S e B), além de aumentar o teor de  $\text{NO}_3^-$  (0,1 para 1,7  $\text{mg kg}^{-1}$ ) e, reduzir o teor de  $\text{NH}_4^+$  como resultado do processo de nitrificação,

incrementou o  $d^{15}\text{N}$  no  $\text{NH}_4^+$  remanescente no solo. O enriquecimento de  $^{15}\text{N}$  ( $d^{15}\text{N}$ ) foi justificado pela maior perda do isótopo  $^{14}\text{N}$  por lixiviação (mais móvel) e volatilização devido aos processos de nitrificação e desnitrificação.

### Estoques e contribuição relativa das formas orgânicas e inorgânicas de nitrogênio no solo

O plantio de acácia (A) e o aumento do tempo de rotação do eucalipto (E24) garantiram o incremento das formas orgânicas de N-hidrolisado no solo em comparação ao plantio de eucalipto de ciclo curto (E7) (Figura 1). Esses resultados podem implicar em maior suprimento de N inorgânico para as plantas ao longo do tempo de cultivo.

O N considerado inorgânico (N- $\text{NH}_4^+$ ) contribuiu com menos de 1% da fração hidrolisada (Figura 1), o que demonstrou a menor disponibilidade de N mineral no solo para as plantas em relação à massiva presença de formas orgânicas de N no solo (mais de 90%), potenciais fontes de N para microrganismos decompositores e plantas. De modo geral, compostos do tipo N- $\alpha$ -amino e N-amida constituíram 50 a 60% das formas de N orgânico hidrolisado (Figura 1).

As frações de N orgânico que apresentaram maior teor e estoque médio foram as de nitrogênio não hidrolisado (N-NH), com 34% do N total (324  $\text{mg kg}^{-1}$  e 925  $\text{kg ha}^{-1}$ ) e N- $\alpha$ -amino, com 39% do N hidrolisado (248  $\text{mg kg}^{-1}$  e 708  $\text{kg ha}^{-1}$ ), seguidos pelo nitrogênio não identificado (N-NI), que contribuiu

TABELA 3: Teores de N- $\text{NH}_4^+$  e N- $\text{NO}_3^-$ , N-inorgânico ( $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ ) e abundância natural de  $^{15}\text{N}$  nas duas formas inorgânicas de N em amostras de solo (0-20 cm) coletadas em áreas com povoamentos de eucalipto de curta (E7) e longa rotação (E24), floresta comercial de acácia (A) e mata nativa (MN). Valores entre parênteses indicam porcentagem de N- $\text{NH}_4^+$  ou  $\text{NO}_3^-$  em relação ao N-inorgânico para cada tratamento.

TABLE 3: Concentrations of N- $\text{NH}_4^+$  and N- $\text{NO}_3^-$ , inorganic-N ( $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ ) and  $^{15}\text{N}$  natural abundance in the two inorganic forms of N in soil samples (0-20 cm) collected in areas with eucalypt short (E7) and long rotation (E24), commercial forests of acacia (A) and native forest (NF). Values in brackets indicate percentage of  $\text{NH}_4^+$  or  $\text{NO}_3^-$ , in relation to N-inorganic for each treatment.

Cultura	N- $\text{NH}_4^+$	N- $\text{NO}_3^-$	N-inorgânico	N- $\text{NH}_4^+$	N- $\text{NO}_3^-$
	----- $\text{mg kg}^{-1}$ -----			-----%-----	
MN	10,30a (53)	9,70a (47)	20,00a	11,49a	18,11a
E24	8,40ab (55)	6,90a (45)	15,30a	9,73c	17,14a
A	9,50ab (56)	7,50a (44)	17,00a	10,86b	18,41a
E7	7,20b (51)	7,10a (49)	14,30a	7,72d	17,97a
CV	9,30	41,90	19,80	1,60	5,94

Em que: Médias seguidas de letras minúsculas iguais entre os cultivos, na coluna, não diferem em nível de 5% pelo teste de DMS. CV(%): coeficiente de variação em porcentagem.

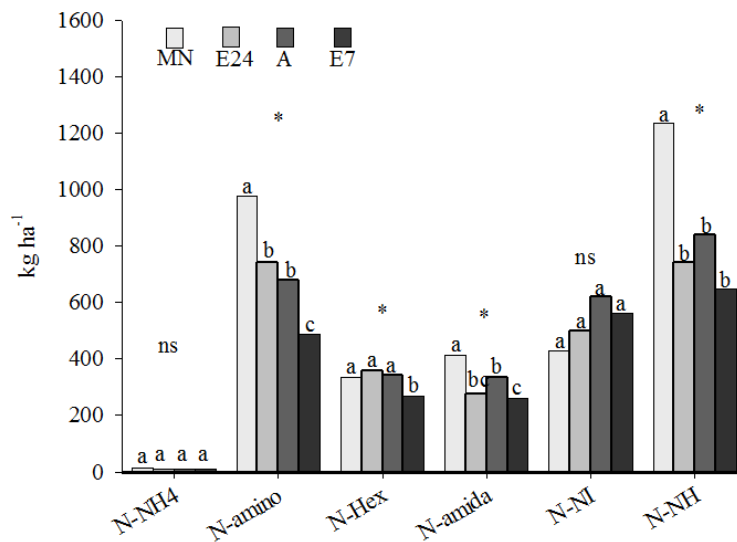


FIGURA 1: Estoque das frações orgânicas (N-amino, N-hexosamina, N-amida, N-não identificado, N-não hidrolisado) e inorgânicas (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) de N em amostras de solo (0-20 cm) coletadas em áreas de eucalipto de curta (E7) e longa rotação (E24), floresta comercial de acácia (A) e mata nativa (MN). Colunas com médias seguidas de letras minúsculas iguais entre os cultivos não diferem ao nível de 5% pelo teste de LSD de Fisher. ns \*: não significativo e significativo a 5%, respectivamente.

FIGURE 1: Stock of Organic (N-amino, N-hexosamina, N-amida, N-not identified, N-not hydrolyzate) and inorganic (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) N fractions in soil samples (0-20 cm) collected in areas of eucalyptus short (E7) and long rotation (E24), commercial forests of acacia (A) and native forest (NF). Columns means followed by identical small letters do not differ between the cultivation to the 5% level by Fisher's LSD test. ns \*: not significant and significant at 5%, respectively.

com 27% do N hidrolisado (176 mg kg<sup>-1</sup> e 502 kg ha<sup>-1</sup>), do N-amida, com 18% do N hidrolisado (114 mg kg<sup>-1</sup> e 326 kg ha<sup>-1</sup>) e do N-hexosamina, com 15% do N hidrolisado (102 mg kg<sup>-1</sup> e 209 kg ha<sup>-1</sup>). Com isso, aproximadamente 66% do N do solo foi hidrolisado (640 mg kg<sup>-1</sup> e 1.745 kg ha<sup>-1</sup>). Segundo Schulten e Schnitzer (1998), as proporções de N hidrolisado em HCl (6 mol L<sup>-1</sup>), geralmente podem atingir 88,9% da fração total do N no solo, a proporção de N hidrolisado não identificado pode variar de 16,5 a 17,8% e, a de N-não hidrolisado compõe, em média, de 11,1 a 15,8% de todo o N do solo. No entanto, Sharpley e Smith (1995) relataram proporção de N-não hidrolisado correspondente a 47% do N total do solo.

A proporção média de N-não hidrolisado entre os solos do presente estudo foi de 36%, considerada pouco inferior aos valores observados por Camargo et al. (1997), que encontraram variações de 37 a 79% do N total como N-não hidrolisado para o método proposto por Yonebayashi e Hattori (1980), em cinco solos (LR, LV, PV, LE e TR) originários do estado do Rio Grande do Sul.

Segundo estes autores e Nguyen e Shindo (2011), as variações na fração não hidrolisada podem estar relacionadas à granulometria e ao manejo dos solos, sendo, quanto mais grosseira a fração, maior a intensidade de hidrólise, enquanto partículas mais finas são protegidas do ataque químico pela formação de complexos argila-metal-húmus.

Comparando-se os solos dos plantios florestais (E24, E7 e A) e da condição nativa (mata nativa-MN), obteve-se nesse último maior porcentagem de N nas formas amino e amida na fração hidrolisada, enquanto o estoque de N-hexosamina do solo de eucalipto de rotação longa (E24) e acácia foram semelhantes àquele da mata nativa ( $p < 0,05$ ). Todos os solos que apresentaram interferência antrópica (E24, A E7) de modo geral, tinham menor proporção de N-amida em comparação ao solo da mata nativa. No entanto, o cultivo de acácia e eucalipto de longa rotação propiciou o aumento das formas orgânicas de N lábeis no solo, indicando o maior potencial de disponibilidade de N no solo para as plantas de cultivos florestais subsequentes.



O incremento nas formas orgânicas de N hidrolisadas (N-amida, N-amino e N-hexosamina) no solo de acácia e eucalipto de longa rotação em comparação ao eucalipto de ciclo curto pode estar relacionado ao menor revolvimento do solo, ao aumento da deposição e da qualidade (menor relação C/N) de resíduos vegetais da acácia na superfície do solo e ao enriquecimento de N orgânico no resíduo da acácia. Em sistemas conservacionistas com menor revolvimento do solo como no sistema plantio direto associado à fertilização, Abril et al. (2007) obtiveram maior manutenção e o incremento de palhada na superfície do solo, por reduzir o contato da palhada com os microrganismos decompositores e aumentar a produção de biomassa. Segundo Sainju et al. (2002), o menor revolvimento do solo e o aumento da deposição de resíduos vegetais resultam em aumento nos teores de carbono e nitrogênio orgânico em solos cultivados no sistema de semeadura direta em comparação ao sistema convencional.

Podem-se associar comparativamente os sistemas de cultivo de eucalipto de longa rotação e o de acácia a sistemas conservacionistas como o plantio direto, por reduzir o revolvimento do solo e aumentar a qualidade dos resíduos vegetais depositados na superfície do solo. Provavelmente, estes fatores também contribuíram para que o solo de mata nativa apresentasse os maiores estoques de N da maioria das frações em comparação aos solos dos outros ecossistemas.

No cultivo de acácia, pode-se observar a maior produção de serapilheira e a menor relação C/N dos resíduos. Segundo Pegoraro et al. (2011), a redução da relação C/N e VSC/N da serapilheira pode aumentar a atividade microbiana no solo e favorecer a estocagem de COT e NT na MOS. Nesse sentido, resíduos grosseiros de eucalipto de curta rotação depositados na colheita apresentam elevada relação C/N e VSC/N implicando em redução na taxa de decomposição da serapilheira e do estoque de N nas formas orgânicas no solo, especialmente quando comparados a cultivos rotacionados com acácia. Segundo Costa et al. (2005), existe alta correlação positiva ( $r = 0,98$ ) entre o teor de lignina e a massa remanescente de serapilheira foliar (folheto recém-caído) em plantios de *E. grandis* incubados durante um período de 382 dias, devido à maior recalcitrância de fenóis constituintes da lignina.

Em relação à forma inorgânica  $\text{N-NH}_4^+$ , obteve-se contribuição de menos de 1% da fração

hidrolisada (Figura 1), o que demonstrou a menor disponibilidade de N mineral no solo para as plantas em relação à massiva presença de formas orgânicas de N no solo (mais de 90%), potenciais fontes de N a microrganismos decompositores e plantas. De modo geral, compostos do tipo N- $\alpha$ -amino e N-amida constituíram 50 a 60% das formas de N orgânico hidrolisado (Figura 1). Essas frações do N orgânico são consideradas mais lábeis à comunidade microbiana (CAMARGO et al., 2008), e, portanto, muito importantes para a nutrição de plantas, por serem potenciais fontes de nutrientes num curto período de tempo (XIAO-TANG et al., 2006).

## CONCLUSÕES

O plantio de acácia em rotação com o eucalipto promove aumento do teor de C orgânico e N na serapilheira e no solo.

No solo de acácia e eucalipto de 24 anos obtêm-se as maiores proporções de  $\text{N-NH}_4^+$ , com 56 e 55%, respectivamente, do N inorgânico ( $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ ), em comparação ao solo de eucalipto com ciclo curto de sete anos.

Os solos cultivados com eucalipto de ciclo curto de sete anos e longo de 24 anos apresentam maior abundância natural de  $^{15}\text{N}$ , que o solo de acácia.

O plantio de acácia e o cultivo do eucalipto 24 anos aumentam as formas orgânicas de N-hidrolisado no solo em comparação ao plantio de eucalipto de ciclo curto (E7) em Argissolo Amarelo.

O N-não hidrolisado (NH) constitui a maior fração orgânica e representa 34% do teor total do N no solo e, os compostos N-amino, N-não identificado, N-amida e N-hexosamina representam, respectivamente, 39%, 27%, 18% e 15% das formas hidrolisadas do N orgânico do solo.

## AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG e ao CNPq pelo apoio financeiro aos autores do estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRIL, A. et al. Effect of wheat crop fertilization on nitrogen dynamics and balance in the Humid Pampas, Argentina. **Agriculture, Ecosystems & Environment**. v. 119, n. 1-2, p. 171-176, 2007.
- BATAGLIA, O.C. et al. **Métodos de análises químicas de plantas**. Campinas: Instituto

- Agrônômico, 1983. 48p. (Boletim, 78)
- BALIEIRO, F.C. et al. Evaluation of the throughfall and stemflow nutrient contents in mixed and pure plantations of *Acacia mangium*, *Pseudosamanea guachapele* and *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v.31, n.2, p.339-346, 2007.
- BODDEY, R.M. et al. Use of the  $^{15}\text{N}$  natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Mérida, v.57, n.3, p.235-270, 2000.
- BREMNER, J.M. Inorganic forms of nitrogen. In: BLACK, C.A.; EVANS, D.D.; ENSMINGER, L.E.; CLARK, F.E. eds. **Methods of soil analysis**, vol 2. Chemical and microbiological properties. ASA, Madison, Wis., 1965, p.1179-1237.
- CAMARGO, F.A.C. et al. Nitrogênio orgânico do solo. In: SANTOS, G.A. et al. eds. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais & subtropicais**. Porto Alegre, Genesis, 2ª edição, 2008. p.87-99.
- CAMARGO, O.F.A.; GIANELLO, C.; VIDOR, C. Tempo de hidrólise e concentração de ácido para fracionamento do nitrogênio orgânico do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.2, p.221-227, 1997.
- CHOI, W.J. et al. Natural  $^{15}\text{N}$  abundances of maize and soil amended with urea and composted pig manure. **Plant and Soil**, v.245, n.2, p.223-232, 2002.
- CHOI, W.J. et al. Irrigation and fertilization effects on foliar and soil carbon and nitrogen isotope ratios in a loblolly pine stand. **Forest Ecology and Management**, v.213, n.1-3, p.90-101, 2005.
- COSTA, G.S.; GAMA-RODRIGUES, A.C.; CUNHA, C.M. Decomposição e liberação de nutrientes da serapilheira foliar em povoamentos de *Eucalyptus grandis* no Norte Fluminense. **Revista Árvore**, Viçosa, v.29, n.4, p.563-570, 2005.
- DIJKSTRA, P. et al.  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  natural abundance of the soil microbial biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, v.38, n.11, p.3257-3266, 2006.
- DIJKSTRA, F.A. et al. Nitrogen deposition and plant species interact to influence soil carbon stabilization. **Ecology Letters**, v.7, n.12, p.1192-1198, 2004.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro, 1997. 212 p.
- ESHETU, Z.; HÖGBERG, P. Effects of land use on  $^{15}\text{N}$  natural abundance of soils in Ethiopian highlands. **Plant and Soil**, v.222, n.1-2, p.109-117, 2000.
- FUNDAÇÃO ARTHUR BERNARDES - FUNARBE. **SAEG - Sistema para análise estatística 5.0**. Viçosa, MG, 1993.
- GOLCHIN, A. et al. The effects of cultivation on the composition of organic matter and structural stability of soils. **Australian Journal of Soil Research**, v.33, n.6, p.975-993, 1995.
- HAGEDORN, F.; SPINLER, D.; SIEGWOLF, R. Increased N deposition retards mineralization of old soil organic matter. **Soil Biology and Biochemistry**, v.35, n.12, p.1683-1692, 2003.
- KRAMER, M.G. et al. N isotope fractionation and measures of organic matter alteration during decomposition. **Ecology**, v.84, n.8, p.2021-2025, 2003.
- LACLAU, J.P. et al. Nutrient cycling in a clonal stand of Eucalyptus and an adjacent savanna ecosystem in Congo. 1. Chemical composition of the rainfall, throughfall and the stemflow solutions. **Forest Ecology and Management**, v.176, n.1/3, p.105-119, 2003.
- LEMMA, B.; OLSSON, M. Soil  $\delta^{15}\text{N}$  and nutrients under exotic tree plantations in the southwestern Ethiopian highlands. **Forest Ecology and Management**, v.237, n.1-3, p.127-134, 2006.
- LIAO, J.D.; BOUTTON, T.W.; JASTROW, J.D. Organic matter turnover in soil physical fractions following woody plant invasion of grassland: Evidence from natural  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$ . **Soil Biology and Biochemistry**, v.38, n.11, p.3197-3210, 2006.
- MATZNER, K.M.E. Nitrogen content of forest floor Oa layers affects carbon pathways and nitrogen mineralization. **Soil Biology and Biochemistry**, v.34, n.11, p.1807-1813, 2002.
- MAY, B.M.; ATTIWILL, P.M. Nitrogen-fixation by *Acacia dealbata* and changes in soil properties 5 years after mechanical disturbance or slash-burning following timber harvest. **Forest Ecology and Management**, v.181, n.3, p.339-355, 2003.
- MIKUTTA, R. et al. Mineralogical impact on organic nitrogen across a long-term soil chronosequence (0.3–4100 kyr). **Geochimica Et Cosmochimica Acta**, v.74, n.7, p.2142-2164, 2010.
- NADELHOFFER, K.J.; FRY, B. Controls on natural nitrogen-15 and carbon-13 abundances in forest soil organic matter. **Soil Science Society of America Journal**, v.52, n.6, p.1633-1640, 1988.
- NGUYEN, T.H.; SHINDO, H. Effects of different levels of compost application on amounts and distribution of organic nitrogen forms in soil particle

- size fractions subjected mainly to double cropping. **Agricultural Sciences**, v.2, n.3, p.213-219, 2011.
- OMETTO, J.C. **Bioclimatologia vegetal**. São Paulo, Ceres, 1981. 425p.
- PEGORARO, R.F. et al. Fenóis derivados da lignina, carboidratos e aminoaçúcares em serapilheira e solos cultivados com eucalipto e pastagem. **Revista Árvore**, Viçosa, v.35, n.2, p.359-370, 2011.
- PICCOLO, M.C. et al.  $^{15}\text{N}$  natural abundance in forest and pasture soils of the Brazilian Amazon Basin, **Plant and Soil**, v.182 n.2, p.249-258, 1996.
- PRIETO-FERNÁNDEZ, A.; CARBALLAS, T. Soil organic nitrogen composition in Pinus forest acid soils: variability and bioavailability. **Biology and Fertility of Soils**, v.32, n.3, p.177-185, 2000.
- SAINJU, U.M., SINGH, B.P.; WHITEHEAD, W.F. Long-term effects of tillage, cover crops, and nitrogen fertilization on organic carbon and nitrogen concentrations in sandy loam soils in Georgia, USA. **Soil & Tillage Research**, v.63, n.3, p.167-179, 2002.
- SCHULTEN, H.R.; SCHNITZER, M. The chemistry of soil organic nitrogen: a review. **Biology and Fertility of Soils**, v.26, n.1, p.1-15, 1998.
- SHARPLEY, A.N.; SMITH, S.J. Nitrogen and phosphorus in soils receiving manure. **Soil Science**, v.159, n.4, p.253-258, 1995.
- SIX, J. et al. Stabilization mechanisms of soil organic matter: implications for C-saturation of soils. **Plant and Soil**, v.241, n.2, p.155-176, 2002.
- SJÖBERG, G. et al. Impact of long-term N fertilization on the structural composition of spruce litter and mor humus. **Soil Biology and Biochemistry**, v.36, n.4, p.609-618, 2004.
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H.; DICKEY, D.A. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. New York : McGraw-Hill, 1997. 666p.
- STEVENSON, F.J. **Humus Chemistry: Genesis, Composition and Reactions**. 2.ed. New York, Willey & Sons Inc., 1994. 496p.
- TEMPLER, P.H. et al. Plant and soil natural abundance  $\delta^{15}\text{N}$ : indicators of relative rates of nitrogen cycling in temperate forest ecosystems. **Oecologia**, v.153, n.2, p.399-406, 2007.
- XIAO-TANG, J. et al. Effect of long-term fertilization on organic nitrogen forms in a calcareous alluvial soil on the North China Plain. **Pedosphere**, v.16, n.2, p.224-229, 2006.
- YEOMANS, J.C.; BREMNER, J.M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.13, n.13, p.1467-1476, 1988.
- YONEBAYASHI, H.; HATTORI, T. Improvements in the method for fractional determination of soil organic nitrogen. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.32, n.4, p.189-200, 1980.