UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS DOUTORADO EM CIÊNCIA DO SOLO

ROBERTO ANDRÉ GRAVE

EMISSÃO DE N₂O E APROVEITAMENTO DE N PELO MILHO EM NITOSSOLO VERMELHO SOB SISTEMAS DE PREPARO E ADUBAÇÃO COM DEJETOS DE SUÍNOS COM ESTRATÉGIAS DE TRATAMENTO.

LAGES, SC 2016

ROBERTO ANDRÉ GRAVE

EMISSÃO DE N_2 O E APROVEITAMENTO DE N PELO MILHO EM NITOSSOLO VERMELHO SOB SISTEMAS DE PREPARO E ADUBAÇÃO COM DEJETOS DE SUÍNOS COM ESTRATÉGIAS DE TRATAMENTO.

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de doutor no Curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cezar Cassol

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com auxílio do programa de geração automática da Biblioteca Setorial do CAV/UDESC.

Grave, Roberto André

Emissão de N_2 O e aproveitamento de N pelo milho em Nitossolo Vermelho sob sistemas de preparo e adubação com dejetos de suínos com estratégias de tratamento. / Roberto André Grave. - Lages, 2016.

117 p.

Orientador: Paulo Cezar Cassol Coorientador: Rodrigo da Silveira Nicoloso Inclui bibliografia

Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Lages, 2016.

1. Dejeto líquido suíno. 2. Efluente de biodigestor. 3. Compostagem de dejeto suíno. 4. Gases de efeito estufa. I. Cassol, Paulo Cezar. II. Nicoloso, Rodrigo Da Silveira. III. Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo. IV. Título

ROBERTO ANDRÉ GRAVE

EMISSÃO DE N₂O E APROVEITAMENTO DE N PELO MILHO EM NITOSSOLO VERMELHO SOB SISTEMAS DE PREPARO E ADUBAÇÃO COM DEJETOS DE SUÍNOS COM ESTRATÉGIAS DE TRATAMENTO

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de doutor no Curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.

Banca Examinadora:

Orientador:	Prof. Dr. Paulo Cezar Cassol UDESC – Lages, SC
Coorientador:	Dr. Rodrigo da Silveira Nicoloso EMBRAPA Suínos e Aves - Concórdia, SC
Membros:	Prof. Dr. Jeferson Dieckow UFPR – Curitiba, PR
	Prof. Dr. Júlio Cezar Pires Santos UDESC – Lages, SC
	Prof. Dr. Álvaro Luiz Mafra UDESC – Lages, SC

Lages, SC, 24 de agosto de 2016

Agradecimentos

A Deus, que me instiga a conhecer e usufruir sua criação através da ciência.

Ao Instituto Federal Catarinense por conceder a licença para capacitação.

À Universidade do Estado de Santa Catarina, pela oportunidade e qualidade do ensino.

À Embrapa Suínos e Aves por disponibilizar sua infraestrutura para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Professor Paulo Cezar Cassol que estimo muito por sua orientação, amizade e compreensão.

Ao co-orientador Pesquisador Dr Rodrigo da Silveira Nicoloso por sua orientação, amizade e dedicação a pesquisa.

A Pesquisadora Dr^a Martha Mayumi Higarashi, pelas sugestões de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Agostinho Rebelato, colega de trabalho por seu incentivo em realizar o curso de Doutorado, e auxilio nas atividades de campo relacionados a pesquisa.

Aos colegas de trabalho Lauri Caetano Rodio e Remi Pastore pelos excelentes almoços em Lages.

A equipe do Laboratório de Análise físico-quimico da Embrapa Suinos e Aves

Aos Bolsistas e estagiários da Embrapa (2012 a 2015) que auxiliaram e muito nas coletas de campo, preparação de amostras, e todo trabalho de laboratório, especialmente Jessica Dala Cort, Alexandre Antoniazzi, Rodrigo Vieira, Diego Fritz, Camila Falkoski, Daiane Raizer Stephani Ribeiro, Morgana Dalla Costa, Carina Sordi e a Luana Sarda.

A Melissa Paola Mezzari pela análise e determinação dos genes funcionais associados com nitrificação e desnitrificação do solo.

Aos professores, funcionários e pós-graduandos ligados ao Programa de Pósgraduação em Ciências Agrárias pelo apoio e amizade.

A todos os meus familiares, em especial meus pais, Milton (*in memoriam*) e Lucinda, pelos ensinamentos sábios durante a minha vida.

A Marta, esposa, que me apoiou e deu atenção a nossas filhas Simony e Ana Vitória, nos momentos em que estava ausente.

RESUMO

GRAVE, Roberto Andé Grave. Emissão de N₂O e aproveitamento de N pelo milho em Nitossolo Vermelho sob sistemas de preparo e adubação com dejetos de suínos com estratégias de tratamento. 2016. 117f. Tese de Doutorado em Ciência do Solo. Area: Fertilidade e Nutrição de plantas. Universidade Do Estado de Snata Catarina- Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, 2016

O uso como fertilizante no solo é uma forma competitiva de destinação dos dejetos líquidos de suínos (DLS), resíduo de alto potencial poluente que é gerado em grandes quantidades na suinocultura, como ocorre nas regiões do Centro e Oeste de Santa Catarina. Entre os nutrientes contidos no DLS, destaca-se o nitrogênio (N) que pode ser liberado no solo nas formas de amônia (NH₃), amônio (NH₄⁺), nitrato (NO₃⁻) e óxido nitroso (N2O). A degradação do DLS também libera dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄) que, juntamente com o N₂O integram o grupo dos gases de efeito estufa (GEE), cujas emissões devem ser restringidas. Nesse contexto, o presente estudo visou quantificar as emissões de N2O, bem como a produtividade e extração de N, P e K pela cultura do milho, em solo com e sem revolvimento e fertilizado com DLS em três estados de estabilização. Para isso, foram conduzidos dois experimentos a campo com tratamentos em fatorial 2 x 5, composto de dois tipos de preparos do solo e cinco fertilizações, organizados em blocos completos com parcelas subdivididas. No primeiro foram quantificadas as emissões de N₂O durante 64 dias nos seguintes tratamentos: plantio direto (PD) e plantio convencional (PC) que foram aplicados nas parcelas principais, e as fertilizações com Ureia, (NMIN), DLS fresco (DLS), DLS digerido anaerobicamente (BIO), DLS compostado em leito de serragem (COMP) e um

controle, sem fertilização (CTR) que foram aplicados nas subparcelas. As fertilizações foram realizadas em dose para fornecer 140 kg ha⁻¹ de N total. As emissões de N₂O foram determinadas em amostras coletadas em câmeras estáticas e correlacionadas com os fatores abióticos temperatura e proporção de poros preenchidos com agua (PPA), enquanto os conteúdos de carbono orgânico dissolvido (COD), de amónio (NH₄⁺-N) e nitrato (NO₃⁻-N) de amostras de solo coletadas na camada 0-0,10 m foram correlacionados com os cinco genes catabólicos envolvidos na nitrificação e desnitrificação. O segundo experimento foi conduzido sob tratamentos e delineamento do primeiro para quantificar a produtividade e extração de N, no cultivo do milho (Zea mays) em três safras em sucessão com trigo (Triticum aestivum) e aveia preta (Avena strigosa). Observou-se que a denitrificação foi a principal fonte de emissão de N2O independentemente do sistema de preparo do solo. No entanto, as emissões de N₂O do solo foram majores no sistema de PD onde foram majores os valores de PPA (> 0,6 cm³ cm⁻³), favorecendo a denitrificação incompleta. A aplicação de BIO restringiu o processo de denitrificação e possibilitou a diminuição da emissão de N2O em 47% em comparação com os PD fertilizado com DLS (2,9 e 5,6 kg N₂O-N ha⁻¹, respectivamente). No somatório da produtividade de grão de milho nas três safras os tratamentos NMIN. DLS e BIO, não apresentaram diferenca produtividade entre si com uma produção de 29,5, 31,5 e 31,7 Mg.ha⁻¹ respectivamente, apontando que o processo de estabilização do dejeto por biodigestão além de apresentar menor emissão de N2O, e CO2, não afeta seu potencial como fertilizante, podendo substituir a fertilização nitrogenada.

Palavras chaves: dejeto líquido de suíno, efluente de biodigestor, compostagem de dejeto suíno,

ABSTRACT

GRAVE, Roberto Andé Grave. N₂O emission and N use for corn in Nitisol under tillage systems and pig manure fertilization with treatment strategies. 2016. 117f. Tese de Doutorado em Ciência do Solo. Area: Fertilidade e Nutrição de plantas. Universidade Do Estado de Santa Catarina- Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, 2016.

Use pig slurry (DLS) as fertilizer in the soil is a competitive form of disposal of this waste with high pollution potential that is generated in large quantities in pig farming, as occurs in the Central and West regions of Santa Catarina State. Among the nutrients contained in the DLS, nitrogen (N) stands out, which can be released into the soil in the form of ammonia (NH₃). ammonium (NH₄⁺), nitrate (NO₃⁻) and nitrous oxide (N₂O). Degradation of DLS also releases carbon dioxide (CO₂) and methane (CH₄) which, together with N₂O in the group of greenhouse gases (GEE), whose emissions should be restricted. In this context, this study aimed to quantify the emissions of N₂O, as well as productivity and extraction of N, by corn in soil with and without tillage and fertilized with DLS in three stabilization states. For this, two experiments were conducted in the field with treatments in a factorial 2 x 5, performed with two types of soil tillage and five fertilization set, arranged in complete blocks with split plot. The first quantified N₂O for 64 days in the following treatments: no-tillage (PD) and tillage (PC) that were applied in main plots. and fertilizations with urea (NMIN), fresh DLS (DLS) DLS digested anaerobically (BIO), DLS composted in sawdust bed (COMP) and a control without fertilization (CTR) that were applied in the subplots. The fertilization was performed in a dose to provide 140 kg ha of total N. N2O emissions were measured in samples collected in static chambers, and related to the abiotic factors,

temperature and the proportion of pores filled with water (PPA), while dissolved organic carbon content (COD), ammonium (NH₄⁺-N) and nitrate (NO₃⁻-N) in soil samples collected in the 0-0.10 m layer were correlated with five catabolic genes involved in nitrification and denitrification. The second experiment was conducted under the same treatments and design of the first to quantify the productivity and extraction of N, P and K in maize cultivation (Zea mays), in three seasons in succession with wheat (Triticum aestivum) and oats (Avena strigosa) Results show that denitrification was the main source of N₂O emissions regardless of tillage system. However, the soil N₂O emissions were higher in NT system where PPA were higher values (> 0.6 cm³ cm⁻³), incomplete denitrification favoring. The application of BIO restricted process of denitrification and allowed the reduction of N₂O emissions by 47% compared with the PD fertilized DLS (2.9 and 5.6 kg N₂O-N ha⁻¹ respectively) For the NMIN, DLS and BIO treatments, the sum of the corn grain yield in the three harvests, showed no significant difference in productivity with a production 29.5, 31.5 and 31.7 Mg ha⁻¹ respectively, that pointing out that the waste product of the stabilization process by digestion besides presenting lower emissions of N₂O and CO₂, does not affect its potential as a fertilizer and can replace mineral nitrogen fertilization.

Keywords: Swine slurry, composted swine slurry, anaerobically digested swine manure.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização da palha de trigo e dos
fertilizantes orgânicos, utilizados nos
tratamentos
Tabela 2. Taxa de aplicação, e quantidades adicionados de
COT e N pela palha de trigo e fertilizantes
orgânicos por unidade de área
Tabela 3 Emissão acumulada de N ₂ O-N do solo de acordo
com os tratamentos sistema de preparo e
fertilização60
Tabela 4. Coficientes de Pearson obtidos pela correlação
entre fatores abióticos do solo e a abundancia
dos genes catabólicos da denitrificação e da
denitrificação na camada de 0 – 0,10 m do solo
(n=40)
Tabela 5. Coficientes de Pearson obtidos pela correlação
entre emissão N ₂ O-N e os fatores abióticos do
solo e da abundância dos genes catabólicos da
nitrificação e denitrificação na camada de solo
de 0-0,10 m de acordo com os tratamentos
sistema de preparo do solo e de fertilização
Tabela 6. Teores de Matéria Seca, N-total, N-org, N-NH ₄ , e
N-NO _x , e dose aplicada dos fertilizantes
orgânicos utilizados no experimento nas safras
2012/13, 2013/14 e 2014/15
Tabela 7. Aporte de C, N, P e K, adicionados aos
tratamentos através dos fertilizantes orgânicos
(FO) e complementados com fertilizante
mineral, nas safras 2012/13, 2013/14 e 2014/15 81

Tabela 8. Produtividade de grão e biomassa acumulada na	
parte aérea da cultura do milho em Nitossolo sob	
sistema de plantio direto (PD) e plantio	
convencional (PC) com fertilização mineral e	
orgânica a base de dejeto suíno nas safras,	
2013/14	. 84
Tabela 9. Coificientes de Pearson obtidos pela correlação	
entre produtividade do milho e a concentração	
de NH ₄ ⁺ -N e NO ₃ ⁻ -N do solo na camada de 0 –	
0,10 m do solo coletado aos 17, 41, 77, 101 e	
135 DAS (n=40) na safra 2013/14	. 86
Tabela 10. Biomassa acumulada na parte aérea da cultura	
do milho em Nitossolo sob sistema de plantio	
direto (PD) e plantio convencional (PC) com	
fertilização mineral e orgânica a base de dejeto	
suíno nas safras 2012/13, 2013/14, 2014/15 e	
somatorio das três safras.	. 88
Tabela 11. Tabela Produtividade de milho cultivado em	
Nitossolo sob sistema de plantio direto (PD) e	
plantio convencional (PC) com fertilização	
mineral e orgânica a base de dejeto suíno nas	
safras 2012/13, 2013/14, 2014/15 e somatorio	
das três safras.	. 91
Tabela 12. Nitrogênio acumulado na parte aérea e grão da	
cultura do milho cultivado em Nitossolo sob	
sistema de plantio direto (PD) e plantio	
convencional (PC) com fertilização mineral e	
orgânica a base de dejeto suíno nas safras	
2012/13, 2013/14, 2014/15 e somatorio das três	
safras.	. 93
Tabela 13. Indices de eficiência de uso do nitrogênio para a	
cultura do milho em função da fertilização	
mineral e orgânica a base de dejeto suíno no	
somatório das três safras (2012/13, 2013/14,	
2014/15) sob sistema de plantio direto (PD) e	
plantio convencional (PC)	. 95

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Teores de NH ₄ ⁺ -N (a,b), NO ₃ ⁻ -N (c,d), COD (e,f) e a razão COD/NO ₃ -N(g,h) na camada de 0 a 0,10 m de Nitossolo em função do tempo e de acordo com o Sistema de preparo do solo (a,c,e,g) e dos tratamentos de fertilização (b,d,f,h). PC sistema de plantio convencional e PD plantio direto CTR: Sem adubação; NPK: Ureia; DLS: Dejeto líquido de suíno fresco; BIO: Digestato de Biodigestor e COMP: composto de dejeto líquido de suino em serragem. Barra de separação de médias denota
	significância para DMS pelo teste de Fischer (p<0,05). Fonte: Produção do próprio autor, 2016
Figura 2	2016
Figura 3	Proporção de poros preenchidos por agua (a) e emissões diárias de N ₂ O-N de acordo com o efeito do sistema de preparo do solo (a) e tratamentos de fertilização do solo (b, c). PC: sistema de plantio convencional e PD: plantio direto CTR: Sem adubação: NPK: Ureia: DLS:

	Dejeto líquido de Suino; BIO: Digestato de
	Biodigestor e COMP: compostagem de dejeto
	líquido de suino. Barra de
	separação de médias denota significância para
	DMS pelo teste de Fischer (p<0,05)65
Figura 4.	Razão entre genes catabólicos da nitrificação e
	denitrificação, amoA/nosZ (a), narG/nosZ (b),
	nirS/nosZ (c) and qnorB/nosZ (d) na camada de
	solo de 0 a 0,10 m de acordo com o Sistema de
	preparo do solo e dos tratamentos de
	fertilização. PC sistema de plantio convencional
	e PD plantio direto CTR: Sem adubação; NPK:
	Ureia; DLS: Dejeto líquido de Suino; BIO:
	Digestato de Biodigestor e COMP:
	compostagem de dejeto líquido de suino. Barras
	de erro denotam o erro padrão das medias
	conforme os sistemas de preparo do solo (n=2) e
	dos tratamentos de fertilização (n=5)71
Figura 5	Variação da concentração de N-NH4+ e N-NO3-
_	do solo em função do sistema de preparo do
	solo (A e C) e o tipo de fertilizante aplicado (B
	e D) na cultura do milho na safra 2013/1485

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇAO GERAL	31
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	33
2.1.	MANEJO DE DEJETOS E EMISSÃO DE GASES I EFEITO ESTUFA.	
2.2.	ESTRATÉGIAS PARA MITIGAÇÃO DA EMISSÂ DE GASES DE EFEITO ESTUFA	
3.	EMISSÃO DE OXIDO NITROSO DO SOI INFLUENCIADO PELO SISTEMA DE PREPAR DO SOLO FERTILIZADO COM DIFERENTIFONTES DE NITROGÊNIO.	RO ES
3.1.	RESUMOINTRODUÇÃO	42 43
3.2.	HIPÓTESES E OBJETIVOS	46
3.2.1	.Hipóteses	46
3.3	MATERIAL E MÉTODOS	46
3.3.2	Experimento de campo, amostragens de gás e anál	
3.3.3	.PCR quantitativo em tempo real.	51
3.3.4	Análise estatística.	52
3.4.	RESULTADOS	53
3.4.1	.Nitrogênio mineral e carbono orgânico dissolvi (COD) do solo	
3.4.2	. Genes catabólicos de nitrificação e denitrificação	57
3.4.3	. Emissões de N2O-N	58
3.5.	DISCUSSÃO	61
3.5.1	. Fatores abióticos do solo e biomarcador metabólicos.	

3.5.2	. Sistemas de preparo solo e as emissões de N_2O	63
3.5.3	. Fontes de Nitrogênio e as emissões de N ₂ O	68
3.5.4	. Conclusões	72
4.	PRODUTIVIDADE E EXTRAÇÃO NUTRIENTES PELO MILHO FERTILIZAÇÃO MINERAL E ORGÂNICA DOIS SISTEMAS DE PREPARO DE SOLO	SOB A EM
4.1.	RESUMOINTRODUÇÃO	75 76
4.2.	HIPÓTESES E OBJETIVOS	77
4.2.1	. Hipóteses	77
4.2.2	. Objetivos	77
	MATERIAL E MÉTODOS	
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	
4.4.3	Dinâmica do nitrogênio no solo sobre o acum massa seca e produtividade do milho na safra 20)13/14
4.4.4	Produtividade do milho e eficiência de u nitrogênio.	so do
4.5.	CONCLUSÕES	95
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
	APÊNDICE A	117

1. INTRODUÇÃO GERAL

A carne suína é a principal fonte de proteína animal consumida a nível mundial. Dessa forma a atividade de criação de suínos representa uma atividade econômica de grande importância, especialmente para o Brasil. Em 2015, o Brasil produziu 3.643 mil Mg de carne suína, posicionando o país como 4º maior produtor e exportador mundial de carne suína. Entre os estados brasileiros, Santa Catarina tem se destacado como responsável pelo maior número de cabeças abatidas (27,4%) e também pelo maior volume de carne exportada pelo país, com 194,2 mil t ano-1 (35%) (ABPA, 2016).

No entanto os resíduos gerados nos criatórios de suínos, normalmente na forma de dejeto líquido de suínos (DLS) a muito tem sido motivo de embates, devido ao seu impacto ambiental, que de certa forma tem se acentuado face ao aumento continuo do número de animais por unidade de produção, objetivando maximizar a rentabilidade das mesmas. Diversas tecnologias têm sido geradas para proporcionar a continuidade da atividade e o aumento do número de animais nos criatórios. No entanto ainda existem diversos aspectos técnicos e impactos do uso desse resíduo no solo que demandam o desenvolvimento de novas soluções.

Atualmente diversos estudos tem o seu foco voltado para os impactos gerados pela produção agropecuária nas emissões de gases responsáveis pelo efeito estufa que tem causado o aquecimento global. Conforme o relatório do Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) de 2007, a produção agropecuária é responsável por 40% dos gases de efeito estufa (GEE) CO₂, CH₄ e N₂O. A ampliação, ou mesmo a manutenção das atuais quantidades e níveis de produção, com reduzida emissão de GEE tem desencadeado esforços da pesquisa, visando fortalecer a atividade suinícola que

desempenha importante papel na economia brasileira, principalmente nos estados da região sul, como Santa Catarina.

O dejeto liquido de suíno, resíduo gerado na atividade suinícola, tem sido usado como fertilizante no solo, pois apresenta na sua composição teores razoáveis de nutrientes, necessários à produção vegetal, como no caso de milho ou culturas forrageiras. No entanto os solos cultivados acabam por ser local de descarte do dejeto, muitas vezes sem considerar os critérios adequados de formas e quantidades a serem aplicadas. Consequentemente o dejeto passa a condição de agente poluidor de grande impacto. No processo de decomposição do dejeto são liberados os nutrientes como nitrogênio (N) nas formas de nitrato (NO₃), de oxido nitroso (N₂O), de amônia (NH₃), fósforo, potássio e os outros nutrientes, além de compostos como dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄).

No entanto, o uso de processos de tratamentos do DLS pode reduzir o seu impacto poluidor, gerando novos fertilizantes, como o efluente de biodigestor e o composto obtido a partir da compostagem do DLS em um leito de maravalha. Assim, esse estudo foi realizado visando avaliar os efeitos desses fertilizantes sobre as emissões de GEE e na produtividade das culturas como milho em sistemas de cultivo e preparo do solo nas condições de agricultura subtropical.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. MANEJO DE DEJETOS E EMISSÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA.

Nas duas últimas décadas tem se acentuado as preocupações com o aumento das emissões antrópicas de dióxido de carbono (CO₂) e outros gases como o metano (CH₄) e o óxido nitroso (N₂O) para a atmosfera. Esses gases causam o efeito estufa, pois promovem um forçamento radiativo positivo que tem como consequência o aumento da temperatura média do planeta e nas mudanças climáticas globais (Cerri et al., 2004; Machado et al., 2004; Lal, 2004). Estudos recentes têm apontado que o setor agropecuário é responsável por fração significativa das emissões de GEE. Este setor produz, mundialmente, cerca de 5% das emissões antropogênicas de CO₂ e 47 e 84% das emissões de CH₄ e N₂O, respectivamente (Rice, 2006). No Brasil, a participação do setor agropecuário pode ser ainda maior, alcançando 75, 91 e 94% das emissões totais de CO₂, CH₄ e N₂O, respectivamente (Cerri & Cerri, 2007).

A participação da suinocultura brasileira nas emissões de GEE do país ainda não foi completamente quantificada. No Canadá, pais que é o terceiro maior exportador mundial de carne suína (ABPA, 2016), estima-se que a suinocultura contribua com 14,9% das emissões anuais de CO₂ do setor agropecuário (Laguë, 2011). Esta estimativa engloba emissões diretas e também aquelas associadas à suinocultura, como as originárias na produção de grãos que serão usados para a alimentação dos animais, transporte, entre outras. No entanto, as emissões de CH₄ e N₂O da suinocultura Canadense que estão diretamente relacionadas com a produção de suínos e o manejo dos dejetos correspondem a 12 e 3% das emissões destes gases, respectivamente, no setor agropecuário daquele país (Laguë, 2011).

Fiala (2008) estimou que a produção de 1 kg de carne de suíno resulta na emissão de 3,8 kg de GEE expressos em equivalentes de CO₂. Zhang et al. (2007) determinou a emissão de GEE em unidades de gestação e maternidade de suínos e concluiu que 40 e 76% do CO₂ e CH₄, respectivamente, são emitidos durante o armazenamento dos dejetos produzidos nestas instalações em esterqueiras anaeróbias abertas. Nos Estados Unidos e Canadá, 61% do metano oriundo do manejo de dejetos de suínos é emitido por esterqueiras onde estes são armazenados em forma líquida, com menos de 8% de sólidos totais (Sharpe et al., 2002). Em estudo monitorando a emissão de CO₂ e CH₄ durante o armazenamento de dejetos líquidos de suínos em esterqueiras, Sardá et al. (2010) constatou que 78% do carbono orgânico mineralizado foi emitido na forma de CH₄, enquanto que 22% foi perdido na forma de CO₂. Zhang et al. (2007) e Blanes-Vidal et al. (2008) não observaram emissões significativas de N2O durante o armazenamento de dejetos de suínos em esterqueiras. Estes resultados eram esperados, visto que nas esterqueiras, onde o ambiente é anaeróbio, o N encontra-se na forma de amônio (NH₄⁺) e a sua oxidação até nitrato (NO₃-), que é o precursor do processo de nitrificação e desnitrificação onde o N2O é gerado como subproduto (Firestone & Davidson, 1989) é limitada pela escassez de oxigênio (Schmidt, 1982).

A principal destinação dos dejetos líquidos de suínos é a sua aplicação ao solo como fertilizante. Em solos bem drenados, as emissões de CH₄ são pequenas, limitadas a pequenos sítios anaeróbios ou curtos períodos de anaerobiose após chuvas. Apesar disto, as emissões de CO₂ e N₂O podem ser significativas. Ao ser aplicado ao solo, os dejetos líquidos de suínos estimulam a atividade biológica devido à adição de N, resultando em aumento da emissão de CO₂ pela decomposição da matéria orgânica do solo e especialmente dos resíduos vegetais na superficie do solo. Chantigny et al. (2001) verificaram que a incorporação de dejetos líquidos de suínos e

palha de cevada ao solo, aumentou em 26% a emissão de CO₂ em relação a emissão deste gás quando os dejetos e a palha eram incorporados separadamente ao solo. Saviozzi et al. (1997), encontrou aumento semelhante de 23% na emissão de CO₂ quando dejetos líquidos de suínos e palha de trigo foram incorporados ao solo e incubados em experimento de laboratório. No entanto, em estudo de campo, Giacomini & Aita (2008b) não verificaram tal efeito quando 63,6 m³ ha-1 de dejetos líquidos de suínos foram adicionados na superfície do solo sobre palha de aveia em experimento de campo. Os autores atribuíram este resultado às intensas precipitações ocorridas logo após a aplicação dos dejetos, que possivelmente deslocaram o N no solo para longe da zona ativa de da palha da aveia. O mesmo trabalho decomposição demonstrou que a incorporação dos dejetos e da palha de aveia ao solo provocou aumento da emissão de CO2 do solo.

Com relação às emissões de N2O após a aplicação de dejetos líquidos de suínos ao solo, é preciso considerar os processos de nitrificação e desnitrificação e as condições necessárias que estes ocorram. A nitrificação é realizada por aeróbias dependem bactérias autotróficas quem disponibilidade de NH₄⁺, o qual é abundantemente fornecido pelos dejetos suínos que apresentam de 40 a 60% do N total nesta forma (Scherer et al., 1996). A desnitrificação depende da disponibilidade de C e NO₃- e é realizado por bactérias heterotróficas anaeróbias. Ambos os processos ocorrem simultaneamente no solo em microssítios de aerobiose e anaerobiose. O NH₄⁺ oriundo dos dejetos é rapidamente nitrificado no solo. Aita et al. (2007) observaram que o NH₄⁺ era completamente oxidado em NO₃- entre 15 a 20 dias após a aplicação dos dejetos ao solo, sendo que a velocidade de nitrificação aumentou com a quantidade de N adicionada. O estimulo a atividade microbiana após a aplicação dos dejetos ainda aumenta a demanda por O2, o que favorece o

aparecimento de microssítios de anaerobiose e o processo de desnitrificação no solo.

Yang et al. (2002) em trabalho de laboratório e de campo, Rochette et al. (2000) e Chantigny et al. (2001) em áreas de agricultura, e também Chadwick et al., (2000) em áreas de pastagens, determinaram que a aplicação de dejetos líquidos de suínos resultou em aumento da emissão de N2O no solo, a qual variou entre 0,1 e 2,1% da quantidade de N adicionada pelos dejetos. Giacomini et al. (2006) determinaram que a aplicação de 40 m³ ha⁻¹ de dejetos líquidos de suínos sobre palha de aveia em plantio direto (PD) ou preparo reduzido (PR) do solo resultou em aumento médio de 410% na emissão de N2O em relação a um tratamento sem adubação. não havendo diferenças significativas entre os métodos de preparo do solo. Os autores ainda determinaram que a quantidade de N perdida na forma de N₂O representou 0,3% do total de N adicionado ao solo (154 kg N ha⁻¹) após 30 dias da aplicação dos dejetos. Denega (2009) verificou que após aproximadamente um ano da aplicação de 48,9 m³ ha-1 de dejetos de suínos ao solo (118,7 kg N ha-1), 5,4 kg do N total adicionado ao solo (ou 4,5%) foi perdido na forma de N₂O. O autor concluiu que o incremento na emissão de N2O em relação ao tratamento testemunha sem adubação e outro com adubação mineral foi de 415 e 270%, respectivamente.

O armazenamento dos dejetos de suínos na sua forma líquida em esterqueiras e sua aplicação *in natura* ao solo resulta, portanto, em elevadas emissões de GEE. Alternativas para a mitigação destes gases devem ser estudadas a fim de reduzir o passivo ambiental desta atividade. O controle das emissões de CO₂, e especialmente de CH₄ e N₂O, que são gases com potencial de aquecimento global (PAG) 21 e 310 vezes superior ao CO₂ (Forster et al., 2007), pode passar pelo tratamento dos dejetos de suínos por biodigestão aneróbia ou compostagem, com o aproveitamento do efluente de biodigestor e composto como fertilizantes orgânicos. Ainda, a

substituição do uso dos adubos minerais por fertilizantes orgânicos gerados a partir dos dejetos de suínos pode ser uma alternativa para redução da dependência brasileira da importação de insumos associado à mitigação dos impactos ambientais das atividades agropecuárias.

2.2. ESTRATÉGIAS PARA MITIGAÇÃO DA EMISSÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA.

As estratégias de mitigação de GEE no setor agropecuário podem ser resumidas em: (1) redução das emissões de GEE; (2) substituição das emissões de GEE de combustíveis fósseis por fontes de energia renováveis; e (3) remoção de CO₂ atmosférico pela fotossíntese e o seu armazenamento em compartimentos estáveis ou de lenta ciclagem no ciclo global do C (Smith et al., 2007). Mundialmente, estima-se que este setor tem potencial para compensar aproximadamente 10% das emissões antrópicas de GEE nos seus níveis atuais, enquanto que no Brasil este potencial pode alcançar de 20 a 30% das emissões de GEE do país (Bayer, 2007). Deste potencial técnico, estima-se que 89% dependem do sequestro de C no solo, 9% da redução das emissões de CH4 (arroz inundado, manejo de ruminantes e tratamento dos dejetos) e 2% são referentes à menor emissão de N₂O do solo (Smith et al., 2007).

Os biodigestores e a compostagem são, atualmente, as tecnologias mais difundidas de tratamento dos dejetos de suínos no Brasil (Kunz et al., 2009). Os biodigestores têm bom potencial para mitigação de GEE, visto que o CH₄ produzido pela decomposição anaeróbia dos dejetos é capturado e convertido em energia que será usada para aquecimento ou geração de energia elétrica, reduzindo assim a carga orgânica, mas mantendo a concentração de NPK do seu efluente (Kunz et al., 2009). Angonese et al. (2007) determinaram que a redução das emissões de GEE pelo uso de biodigestor em comparação

ao armazenamento de dejetos em esterqueira foi equivalente a 325,16 Mg CO₂eq ano⁻¹ em uma unidade de terminação com 600 suínos alojados, ou 73,7% das emissões da linha-base (esterqueira). Neste trabalho, o autor considerou as emissões de CH₄ e N₂O da esterqueira e do biodigestor e da lagoa de armazenamento dos efluentes do biodigestor, mas não considerou a emissão de GEE após a aplicação dos dejetos ao solo oriundos dos dois sistemas analisados. Brondani (2010) determinou que o tratamento de 21.097 m³ ano⁻¹ de dejetos de uma unidade de produção de suínos de ciclo completo do município de Santa Rosa-RS com 670 matrizes instaladas gerou 223.423,8 m³ ano⁻¹ de biogás. A queima do metano presente no biogás correspondeu à mitigação de 2031,1 Mg CO₂eq ano⁻¹ pelo projeto de mecanismos de desenvolvimento limpo (MDL) desenvolvido naquela propriedade.

No entanto, é necessário considerar que as estratégias de mitigação de GEE empregadas no setor agropecuário podem afetar mais de um GEE, por mais de um mecanismo, em processos que podem inclusive serem opostos, assim o beneficio líquido da adoção destas estratégias deve ser avaliado pelo efeito combinado sobre todos os GEE (Robertson & Grace, 2004; Schils et al., 2005; Koga et al., 2006). Ainda, o efeito de uma estratégia de mitigação pode variar no tempo de maneira distinta entre os gases, alguns podem ser mitigados indefinidamente. enquanto outros são afetados temporariamente (Six et al., 2004; Marland et al, 2003). Desta maneira, no que diz respeito aos dejetos de suínos, é necessário considerar as emissões de GEE também após o tratamento dos dejetos, quando estes são aplicados no solo como fertilizantes.

Considerando que o tratamento de dejetos por biodigestores não reduz o conteúdo de N do efluente (Kunz et al., 2009; Rajagopal & Béline, 2011), podemos estimar que a sua aplicação como fertilizante ao solo pode promover o incremento das emissões de GEE de maneira similar os dejetos líquidos de suínos não tratados. Na verdade, esta estimativa

pode ser até conservadora, visto que o teor de NH₄⁺ no efluente de biodigestor tende a ser maior do que nos dejetos não tratados (Rajagopal & Béline, 2011), o que pode acelerar os processos de nitrificação e desnitrificação no solo (Aita et al., 2007) e aumentar a emissão de N2O. Associando as informações do trabalho de Denega (2009), que determinou que, em um ano, 4,5% do total de N aplicado ao solo via dejetos líquidos de suínos foram perdidos na forma de N2O. com o volume de dejetos tratados por biodigestor relatado no trabalho de Brondani (2010) que foi de 21.097 m³ ano⁻¹, podese estimar que a aplicação deste mesmo volume de efluentes ao solo pode causar a emissão de 3,66 Mg N₂O ano⁻¹. Sabendo que o N₂O tem PAG 310 vezes superior ao CO₂ (Foster et al., 2007), a emissão deste gás seria equivalente a emissão de 1.134,6 Mg CO₂ ano⁻¹. Esta emissão de N₂O promovida pela aplicação do efluente do biodigestor no solo contrabalancearia o equivalente a 55,9% do efeito do biodigestor em mitigar a emissão de CH₄. Fica claro, portanto, que a avaliação de estratégias de mitigação de GEE no tratamento de dejetos suínos deve englobar o solo como destino final destes dejetos para determinação do balanço completo destes gases.

Outra estratégia promissora para mitigação de GEE é o tratamento dos dejetos líquidos de suínos por compostagem. Neste sistema, os dejetos líquidos de suínos são incorporados a um substrato com alta relação C/N de maravalha, serragem, palha, casca de arroz ou outros materiais conforme sua disponibilidade na região (Oliveira et al., 2004). Entre as vantagens da compostagem está a redução do volume dos dejetos pela evaporação da água, o que permite a obtenção de um composto sólido com baixa umidade, reduzindo custos de manejo e transporte o que possibilitaria a comercialização do composto como fertilizante orgânico (Oliveira et al., 2004). Paul et al. (2010) observaram que as emissões de GEE pela compostagem foram apenas 24% das estimativas do IPCC para o tradicional manejo de dejetos líquidos de suínos. Thompson

et al. (2001) observaram uma redução de 15 e 24% nas emissões de CH₄ e N₂O, respectivamente, com o manejo dos dejetos na forma sólida, quando comparado com o manejo na forma líquida. Sardá et al. (2010) verificaram que no sistema de compostagem dos dejetos líquidos de suínos em substrato de maravalha, apenas 22% do total de C mineralizado foi emitido na forma de CH₄, enquanto que dejetos líquidos armazenados em esterqueiras emitiram no mesmo período 77% do total de carbono mineralizado como gás metano. No mesmo trabalho, observou-se que a emissão de metano foi sete vezes maior na esterqueira do que na compostagem em um período de 60 dias de monitoramento. No entanto, trabalhos que contemplem o monitoramento integrado das emissões de CO2, CH4 e N2O o tratamento dejetos líquidos de suínos por compostagem ainda não existem no Brasil e são necessários para a determinação do potencial desta tecnologia na mitigação de GEE.

No que se refere ao uso do composto como fertilizante orgânico, Paul et al. (2010) relataram menores emissões de N₂O após aplicação do composto ao solo do que quando este recebeu dejetos líquidos de suínos. Como na compostagem, o N se encontra principalmente na forma orgânica, dependendo da decomposição microbiana para sua mineralização, ocorre uma liberação lenta de N no solo, aumentando a probabilidade deste nutriente ser absorvido pelas plantas e reduzindo assim as perdas de N₂O. Comparando as emissões de CO₂ pelo solo após a aplicação de dejetos líquidos ou cama sobreposta de suínos, onde os dejetos sofreram um processo de compostagem "in situ" (Oliveira, 1999), Giacomini & Aita (2008b) verificaram que não houve diferença entre os tratamentos apesar de o aporte de C pela cama sobreposta ter sido 2,3 vezes superior ao aporte de C pelos dejetos líquidos. Os autores ponderam que estes resultados indicariam que a cama sobreposta pode contribuir para o aumento dos estoques de matéria orgânica do solo promovendo assim seqüestro de C no

solo, fato não verificado na literatura pelo uso dos dejetos líquidos.

O seguestro de C no solo pode ser verificado quando existe a associação de elevado aporte de C com a mínima mobilização no solo, como ocorre no sistema plantio direto (PD) que é adotado em diversas regiões do Brasil, totalizando aproximadamente 26 Mha. As taxas de armazenamento de carbono no solo (0-0,20 m) sob sistema PD no Brasil têm variação regional e tem médias de 0,48 Mg C ha⁻¹ ano⁻¹ no Sul do Brasil e 0,35 Mg C ha⁻¹ ano⁻¹ no Centro Oeste (Bayer et al. 2006). Ao contrário do que se poderia esperar pelas condições climáticas altamente favoráveis a atividade biológica, as taxas de seguestro de C em solos brasileiros são similares ou até mesmo maiores do que aquelas verificadas em solos de regiões temperadas (0,34 Mg C ha⁻¹ ano⁻¹ na camada de 0-0,30 m). Considerando uma taxa média de 0,41 Mg C ha-1 ano-1 extrapoladas para a área de PD no Brasil, é possível estimar um potencial de mitigação da emissão de CO₂ equivalente a 38 Tg ano-1. Estas taxas foram determinadas em áreas agrícolas recebendo adubação mineral e/ou com sistemas de culturas envolvendo adubos verdes. Estima-se que taxas maiores podem ser obtidas com o uso de adubos orgânicos como o composto de dejetos de suínos, conforme relatado anteriormente por Nicoloso (2009).

3. EMISSÃO DE OXIDO NITROSO DO SOLO INFLUENCIADO PELO SISTEMA DE PREPARO DO SOLO FERTILIZADO COM DIFERENTES FONTES DE NITROGÊNIO.

RESUMO

As práticas de preparo do solo e adubação afetam as propriedades do solo e, consequentemente, a abundância das bactérias nitrificadoras e desnitrificadoras que promovem as perdas de N₂O em áreas de solos agrícolas. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de fontes mineral e orgânicas de N, sendo essas derivadas de dejeto líquido de suínos (DLS), na emissão de N2O de um Nitossolo sob contrastantes níveis de perturbação do solo em experimento conduzido a campo. Os tratamentos aplicados foram dois sistemas de preparo do solo, plantio direto PD e plantio convencional, e as fontes de N uréia, na dose 140 kg N ha-1 (NMIN), DLS sem estabilização, DLS digerido anaerobicamente (BIO), DLS compostado em leito de serragem (COMP) e um controle, sem adição de N (CTR). As emissões de N2O foram avaliados durante 64 dias em amostras de ar coletadas em câmaras estáticas instaladas na superficie do solo e os atributos do solo foram determinados em amostras coletadas na camada 0 a 0,10 m. As emissões de correlacionada fatores abióticos N_2O foram com OS temperatura, proporção de poros preenchidos com agua (PPA), enquanto os teores de carbono orgânico dissolvido (COD), de amónio (NH₄⁺-N) e de nitrato (NO₃⁻-N), com os genes catabólicos especificamente envolvidos na nitrificação e desnitrificação. Tais genes codificam as seguintes enzimas: monooxigenase de amônio (amoA), a nitrato (narG), nitrito (nirS), óxidos nítrico (qnorB) e da óxido nitroso (nosZ) redutases, respectivamente. A denitrificação foi a principal origem de emissão de N2O, independentemente do sistema de preparo do solo. No entanto, as emissões de N₂O do solo foram maiores no sistema de PD, onde foram maiores os valores de PPA (> 0,6 cm³ cm⁻³), favorecendo a denitrificação incompleta. O BIO restringiu o processo de denitrificação e possibilitou a diminuição da emissão de N₂O em 47% em comparação com o PD fertilizado com o DLS (2,9 e 5,6 kg N₂O-N ha⁻¹, respectivamente). Curiosamente, a emissão de N₂O no sistema de PD fertilizado com COMP (4,7 kg N₂O-N ha⁻¹) foi associada ao incremento nas comunidades de bactérias, tanto de nitrificantes heterotróficas quanto de denitrificantes, quando o solo estava com alto valor de PPA. A aplicação de dejetos líquidos de suínos estabilizados, quer por digestão anaeróbia ou por compostagem diminuim as emissões de N₂O em relação ao resíduo fresco, especialmente quando são adotadas práticas de manejos de solo conservacionistas, como no sistema de plantio direto

Palavras-chave: compostagem; biodigestão anaeróbica; digestato; óxido nitroso; qPCR; preparo do solo

3.1. INTRODUÇÃO

Os solos agrícolas são uma das principais fontes antropogênicas responsáveis pelo incremento na concentração de N2O na atmosfera (Davidson, 2009). As emissões de N2O são influenciadas por fatores como: o pH do solo, a temperatura, o teor de oxigênio, a umidade disponibilidade de carbono e nitrogênio para os processos de nitrificação e desnitrificação (Butterbach-Bahl et al, 2013; Giles et al, 2012). O preparo do solo associado a práticas de podem fertilização interferir nesses fatores abundância das comunidades consequentemente, na bactérias nitrificadoras e denitrificadoras que são conhecidos por regularem as taxas de emissões de N2O nos solos agrícolas (Butterbach-Bahl et al., 2013).

A difusão parcial do oxigênio sob condições de teor de umidade do solo moderadamente elevada (60-75% de poros

preenchidos por água (PPA)) e o incremento na disponibilidade NO3-N, leva ao truncamento do processo de desnitrificação resultando no incremento das emissões de N2O (Panek et al. 2000;. Giles et al., 2012). Isto é o que apontam vários estudos, altas emissões de N2O em sistemas de plantio direto (PD) em resposta ao aumento PPA e a disponibilidade N comparação aos solos com plantio convencional (PC) (Bathia et al., 2010; Bayer et al., 2015; Marquina et al., 2015.). Somado a isto, as fontes de N também têm impacto significativo processos nitrificação sobre os de desnitrificação condicionando as emissões de N2O a partir de ambos os processos. Já é de conhecimento que o uso de fontes de N sintéticos ou leguminosas como plantas de cobertura aumentam as emissões de N2O em função do aumento do conteúdo de N mineral do solo, o que consequentemente, aumenta as taxas de nitrificação autotrófica e denitrificação em solos agrícolas (Bateman e Baggs, 2005; Bayer et al., 2015; Gomes et al, 2009; Inubushi et al, 1996). No entanto, a oxidação de N orgânico para NO3 através da nitrificação heterotrófica também pode contribuir significativamente para a produção de N2O em solos agrícolas e florestais ácidos com quantidades altas de matéria orgânico (Cai et al., 2010 ; Zhang et al, 2011;.. Zhang et al, 2015).

O uso de esterco em substituição ao N sintética tem resultados contraditórios na literatura com estudos de apontam aumento (Bertora et al, 2008; Dambreville et al., 2008; Ellis et al, 1998; Rochette et al., 2004), similar (Arcara et al, 1999; Vallejo et al, 2006) ou mesmo diminuição (Asgedom et al, 2014; Davidson, 2009) das emissões de N₂O do solo. A aplicação de dejetos líquidos de suínos foi relatado aumentar a emissão N₂O de tanto em PC (Bertora et al, 2008; Dambreville et al, 2008; Rochette et al., 2004) quanto em PD (Aita et al, 2014; Gonzatto et al., 2013). O uso de esterco de galinha em um Alfisol arenoso também aumentou emissão de N₂O independentemente sistemas de preparo do solo (Heller et al.,

2010), mas observou-se uma interação positiva entre preparo do solo e a adubação com estercos em PC em comparação ao PD. No entanto, baixas emissões de N₂O foram observados em um Vertisol argiloso adubados com esterco incorporado por escarificação em relação aos fertilizantes nitrogenados sintéticos (Asgedom et al., 2014). Assim, a discrepância nos resultados obtidos parece estar relacionado com qualidade das fontes de N e a sua interação com as práticas de manejo do solo nessas avaliações.

A aplicação de dejeto líquido de suíno (DLS) rico em NH₄⁺-N também fornece C lábil ao processo de desnitrificação sustentando as elevadas emissões N2O (Rochette et al., 2000). Assim, modificações qualitativas da matéria orgânica presente proporcionados pela digestão anaeróbia compostagem (Vivan et al., 2010; Angnes et al, 2013) também pode impactar na dinâmica do C e N que afetam as emissões de N₂O do solo. Relatos apontam que a aplicação e a incorporação de DLS digerido em biodigestor, diminui significativamente as emissões de N₂O, em comparação com a DLS não tratado, pois limita a adição C solúvel e as taxas de denitrificação (Bertora et al, 2008; Vallejo et al., 2006). No entanto, a incorporação de DLS compostado, contendo N-orgânico com elevado conteúdo de C recalcitrante, reduziu as taxas de denitrificação, em contrapartida, foi observado um aumento nas emissões de N₂O em 40% em comparação ao DLS não tratado em um Neossolo argiloso (Vallejo et al., 2006). Em contraste, uma outra avaliação os autores relatam até 57% menor emissão de N₂O a partir de um franco Inceptisol, após a incorporação de composto de DLS em comparação com os DLS não tratado (Kariyapperuma et al., 2012).

Os processos que regulam as emissões de N₂O em sistemas de cultivo de solo sob PC e PD fertilizados com adubos orgânicos e seu impacto se previamente são tratados ainda são mal compreendidos, especialmente em agroecossistemas tropicais. Assim, o objetivo deste estudo foi

avaliar os mecanismos que regulam as emissões de N₂O do solo sob contrastantes sistemas de preparo do solo (PC com mobilização e PD sem mobilização do solo) e fontes de N (uréia, DLS, DLS digerido e DLS compostado). Isto foi possibilitado pelo uso da correlação de genes que abrigam especificamente a expressão dos processos catabolicos de nitrificação e denitrificação em comunidades de bactérias, com os fatores abióticos do solo e com as emissões de N₂O a partir de um Nitossolo do Sul do Brasil.

3.2. HIPÓTESES E OBJETIVOS.

3.2.1. Hipóteses

O dejeto liquido de suíno submetido a tratamento prévio quer por digestão anaeróbica ou compostagem, utilizado como fertilizante do solo resulta em emissão de N₂O semelhante ao dejeto liquido suíno não tratado.

3.2.2. Objetivos

Quantificar a emissão de N_2O e avaliar os mecanismos que regulam esse processo em solo sob sistemas de preparo contrastantes (PC, com mobilização e PD, sem mobilização do solo) e fertilizado com diferentes fontes de N (uréia, DLS, DLS digerido e DLS compostado).

Correlacionar genes que contém a expressão dos processos catabólicos de nitrificação e denitrificação em comunidades de bactérias, com os fatores abióticos do solo e com as emissões de N₂O em Nitossolo do Sul do Brasil

3.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.3.3. Experimento de campo, amostragens de gás e análise

O experimento foi iniciado em janeiro de 2013 em um Nitossolo (Rhodic Nitisol segundo a classificação da FAO (1998) localizado em Concordia-SC, Brasil (27º18'53 "S

51°59'25" O). O local havia sido cultivado com milho e trigo em sistema de plantio direto e os resíduos vegetais existentes foram removidos manualmente e em seguida foi colocado sobre a superfície de todas as parcelas o equivalente a 4,0 Mg ha¹ de palha de trigo [*Triticum aestivum* (L.)] (23 de janeiro: dia 0). As características do solo (0-0,10 m camada de solo) foram: argila, silte e areia de 250, 460 e 290g kg¹, respectivamente, pH-H₂O (1:1) de 5,3, pH-SMP 5,8, MOS 39,0 g kg¹, P_{Mehlich-I} 6,6 mg dm³, K_{Mehlich-I} 249,6 mg dm³, Ca 7,5 cmolc dm³, Mg 3,3 cmolc dm³, CEC 11,8 cmolc dm³ e saturação por bases de 68%. O clima local é subtropical úmido (Cfa), com base no sistema de classificação de Köppen (Embrapa, 2004).

Tabela 1. Caracterização da palha de trigo e dos fertilizantes orgânicos, utilizados nos tratamentos.

	Características								
Material	MS	SV	COT	NT	N-Org	NH ₄ -N	NO ₃ -N	C/N	
	%kg m ⁻³								
DLS^1	7.4	45.9	29.0	4.4	1.7	2.7	ND	6.6	
BIO^1	6.5	38.4	17.7	5.2	2.6	2.6	ND	3.4	
	% g kg ⁻¹								
$COMP^2$	29.1	ND	317.0	16.6	15.1	1.2	0.3	19.1	
PT^2	90.0	ND	428.7	12.2	ND	ND	ND	35.1	

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

DLS: Dejeto líquido de Suíno; BIO: Digestato de Biodigestor e COMP: compostagem de dejeto líquido de suíno; PT: palha de trigo ¹ resultados expressos em base natural; ² resultados expressos em base seca. ND não determinado; MS massa seca; SV sólidos voláteis; COT carbono orgânico total; NT nitrogênio total; N-Org nitrogênio orgânico; NH₄-N: nitrogênio amoniacal; NO₃-N: nitrogênio nítrico. C/N razão carbono total/nitrogênio total.

O delineamento experimental foi o de parcelas subdivididas onde foram dispostos os tratamentos, sendo dois níveis de revolvimento no preparo do solo nas parcelas

principais (1m x 5m) e cinco tipos de fertilização nas subparcelas (1m x 1m), com quatro repetições. Os blocos foram separados entre si por uma faixa de 1 m de largura e entre as parcelas e subparcelas, esta era de 0,4 m. Os tratamentos de preparo do solo foram: plantio convencional (PC) e plantio direto (PD). No tratamento PC, a palha de trigo foi incorporado na camada de 0-0,10 m manualmente com uma pá, garantindo que não permanecessem intactos agregados maiores que 2 centímetros (25 de janeiro: dia 2). No tratamento dos PD, a palha de trigo foi mantida a superficie do solo sem revolvimento. Cinco dias após (28 de janeiro) foram aplicados os tratamentos Ureia (NMIN), dejeto líquido de suíno (DLS) sem estabilização, dejeto líquido de suíno digerido (BIO), e dejeto líquido de suíno compostado em leito de maravalha (COMP), todos em dose equivalente a 140 kg ha⁻¹ de N-total; e o tratamento controle (CTR) sem adição de fertilizante. Os fertilizantes orgânicos utilizados neste estudo foram obtidos a partir de uma granja de engorda de suínos da Embrapa Suínos e Aves (Tabela 1). Amostras de palha de trigo, DLS, BIO, e COMP foram analisadas para caracterização desses materiais conforme relatado por Angnes et al. (2013).

pama de trigo e fertifizantes organicos por unidade de area.								
	Taxa de	COT	N adicionado					
Material	aplicação	adicionado	NT	N-Org-	NH4-N	NO_3 -N		
	m³ ha-1		kg ha ⁻¹					
DLS^1	31.7	919	140	54	86	ND		
BIO^1	27.1	480	140	70	70	ND		
	Mg ha ⁻¹							
$COMP^2$	29.0	2,675	140	127	10	3		
PT^2	4.0	1,543	44	ND	ND	ND		

Tabela 2. Taxa de aplicação, e quantidades adicionados de COT e N pela palha de trigo e fertilizantes orgânicos por unidade de área.

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

DLS: Dejeto líquido de Suíno; BIO: Digestato de Biodigestor e COMP: compostagem de dejeto líquido de suíno; PT: palha de trigo ¹ resultados expressos em base natural; ² resultados expressos em base seca. ND não determinado; COT carbono orgânico total; NT nitrogênio total; N-Org nitrogênio orgânico; NH₄-N: nitrogênio amoniacal; NO₃-N: nitrogênio nítrico.

O experimento foi conduzido durante 64 dias, com início em 23 de janeiro (dia 0), quando a palha de trigo foi adicionada nas parcelas. Durante este período, a precipitação, a temperatura média diária do ar e umidade foram registrados em uma estação meteorológica localizada a 250 m da área experimental. A avaliação de emissão de N2O solo foi realizada utilizando câmaras estáticas seguindo um protocolo de amostragem padrão, conforme Rochette et al. (2012) detalhadamente descrito em Grave et al. (2015). Iniciou-se a amostragem de gases dia 24 de janeiro (dia 1) sendo realizadas (entre 10-12 h) para os primeiros 30 dias e pelo menos a cada dois dias depois. As amostras foram analisadas em um analisador de gases INNOVA 1412 (LumaSense Technologies, Dinamarca), onde o conteúdo de N2O nas amostras de ar foi avaliada por espectroscopia de infravermelho fotoacústica (Yarmulke e Jarvis, 1999; Nicoloso et al, 2013).

Os fluxos de $N_2\text{O-N}$ do solo foram calculados com base nas seguintes equações:

$$Q = (N \times MWR \times P \times V) / (R \times T) (1)$$

 $f = (\Delta Q / Dt) / A (2)$

Onde: Q é a massa de N_2O -N no interior da câmara (ng N_2O -N); N é o teor de N_2O na amostra medida pelo analisador de gases (N_2O mmol mol⁻¹ de ar); MWR é razão da massa molecular entre N_2O e N_2O -N (28 ng N.nmol⁻¹ N_2O); P é a pressão parcial dos gases (assumido como 1 atm); V é o volume da câmara (L); R é a constante dos gases ideais (0,0821 atm L mol⁻¹ °K⁻¹); T é a temperatura do gás (°K); f é o fluxo de N_2O -N (ng N_2O -N m⁻² min⁻¹); ΔQ é a alteração linear no conteúdo de N_2O (ng N_2O -N) no interior da câmara ao longo do tempo (At, min⁻¹); e A é a área da base da câmara (m2) .Os resultados foram em seguida extrapolados para uma base diária (Rochette et al., 2012). Para mais detalhes sobre o experimento de campo, amostragem análise de gases e ver Grave et al. (2015)

2.2. Amostragem do solo e análises de físico-químicas

A temperatura do solo foi medida no momento das amostragens de gases com termometro digital tipo vareta inseridos no solo na camada de 0-0,10 m em cada subparcela. As amostras de solo foram coletadas nessa mesma camada de solo em cada subparcela 2-3 vezes por semana, para a caracterização físico-química. A percentagem de poros preenchidos com água (PPA) foi quantificada como descrito por Grave et al. (2015) e as amostras coletadas nos dias 7, 12, 16, 21, 26, 30, 35, 42, 49 e 57 foram armazenadas a -20°C para posterior análise. O teor de N mineral (NH₄⁺-N e NO₃⁻ + NO₂⁻-N) nestas amostras foram determinados por suspensão de 5 g de solo em 25 ml de solução 1 M de KCl em agitação orbital por 30 min. A suspensão foi mantida em repouso por 30 min e alíquotas do sobrenadante límpido foram coletadas para determinação de NH₄⁺-N por destilação a vapor (Keeney e Nelson, 1982) e NO₃⁻ + NO₂⁻-N com um sistema de análise por injeção em fluxo (FIAlab - 2500). Considerando-se que concentrações de NO₂⁻ - N no solo nas primeiras determinações foram insignificantes, os valores das concentrações de NO₃⁻ + NO₂⁻-N passam a serem determinados e referidos como NO₃⁻-N. As amostras de solo recolhidos aos dias 7, 21, 35 e 49 foram também analisadas quantificar o conteúdo de carbono orgânico dissolvido (COD) por suspensão de 5 g de solo em 50 ml de água destilada mantido em agitação por 12 h. A suspensão foi mantida em repouso por 3 h e o sobrenadante foi recolhido, centrifugado (15 min a 2.600xg) e passado através de um filtro de nylon de 0,45 μm (Chantigny, 2003). O conteúdo de COD nas amostras límpidas, foi então quantificada em um analisador de TOC (Multi-C / N 2100, AnalytikJena).

3.3.4. PCR quantitativo em tempo real.

Genes funcionais associados com nitrificação e desnitrificação foram quantificados em amostras coletadas nos dias 7, 21, 35 e 49 da camada de 0-0,10 m de solo de cada subparcela. A concentração total de bactérias foi estimada pela amplificação da região 16S rDNA utilizando iniciadores de uma região conservada entre os membros do domínio Bactérias (E. coli posições 1055-1070 e 1413-1427). Os processos de nitrificação foram correlacionados com a presença de bactérias que abrigam o gene monooxigenase de amonia (*amoA*), e para denitrificação os genes Nitrato redutase (*narG*), nitrito redutase (*nirS*), reductases de óxido nítrico (*cnorB* e *qnorB*) e redutase do óxido nitroso (*nosZ*).

O DNA bacteriano foi extraído das amostras de solo usando o kit de isolamento de DNA PowerSoil® (Mobio Laboratories Inc., EUA) de acordo com as instruções do fabricante. A mistura de PCR continha 1×SYBR GREEN/ROX (Ludwig Biotec, Brasil); 500 nM primers frente e reverso (Prodimol Biotecnologia®, Brasil) e água livre de DNAse estéril para fazer um volume final de 25 μL. As reacções de PCR foram realizadas utilizando um Rotor Gene 6000 (Corbett Research, NSW, Austrália). A sequência dos primers e as

condições de temperatura específicos do PCR foram previamente relatados para a amplificação de *amo*A (Rotthauweet et al., 1997), *nar*G (López-Gutierrez et ai., 2004), *nor*B (Braker e Tiedje, 2003), *nir*S (Braker et ai., 1998), *nos*Z (Chon et al., 2011) e os genes 16SrDNA (Ferris et ai., 1996).

As curvas padrão para DNA 16S foram obtidos por meio de diluições de 10 vezes do DNA genomico de Escherichia coli (ATCC 35218) e por clonagem de todos os outros genes. Os produtos de PCR do tamanho esperado foram ligados no PCR® 2,1-TOPO® vector (Invitrogen, EUA) e transformado em células competentes de DH5a de E. coli (Sambrook et al., 2001). Os clones foram cultivados em placas contendo meio de cultura Luria-Bertani suplementado com ampicilina (50 mg/ml). As colônias foram selecionadas e o DNA plasmídico foi extraído pelo método alcalino (Sambrook et al., 2001). A presença da sequência inserida no DNA plasmídeo foi confirmada por PCR convencional concentrações de plasmídeo foram medidos utilizando um espectrofotómetro Nano-drop. As diluições em série de 101 a 10⁹ cópias do gene mL⁻¹ foram utilizadas para preparar curvas de calibração. O número de cópias do gene em cada amostra foi estimado com base na seguinte equação:

Números de cópias do gene. $\mu L^{-1} = (\mu g \ DNA \ \mu L^{-1}) / (pb do genoma^{-1}) \times bp \ \mu g \ DNA^{-1} \times genes do genoma^{-1}$

Esta equação assume o tamanho do par basal (bp) do genoma bacteriano utilizado como padrão em curvas de calibração (pb) (http: //www.genomes online.org) e há aproximadamente 9.1×10^{14} bp.µg⁻¹ de DNA. O limite de detecção de cada ensaio foi de $\geq 10^2$ cópias do gene. mL⁻¹.

3.3.5. Análise estatística.

A temperatura do solo, PPA, conteúdo de N mineral e COD, razão entre COD/N mineral, valores diários e acumulados das emissões de N₂O-N foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos

foram comparadas pelo teste LSD de Fisher. Coeficientes de Pearson (r) foram obtidos correlacionando os fatores abióticos do solo, genes nitrificantes e denitrificantes, e a emissão diária de N_2O -N do solo. As análises estatísticas foram executadas utilizando o software SigmaPlot 12.5 (Systat Software Inc.) e os resultados foram considerados estatisticamente significativos se p <0,05.

3.4. RESULTADOS

3.4.1. Nitrogênio mineral e carbono orgânico dissolvido (COD) do solo

Não houve interação entre preparo do solo e fertilização com relação às variáveis NH₄⁺, NO₃⁻-N, COD, e a razão COD/NO₃-N. Assim, os resultados apresentados na Fig. 1 apresentam os efeitos principais destes tratamentos. O conteúdo de NH₄⁺-N no solo (Fig. 1a / b) foi o mais afetado pelos tratamentos de fertilização durante os primeiros 28 dias do experimento. A fertilização do solo com NMIN, BIO e DLS incrementou os conteúdos de NH₄⁺-N em ambos PD e PC (até 207 mg kg⁻¹ no dia 7), enquanto que a aplicação COMP não teve efeito sobre conteúdo de NH4+-N no solo. O melhor contato com o solo aumentou a mineralização dos fertilizantes orgânicos sob PC (Grave et al., 2015), enquanto a retenção parcial dos fertilizantes nos resíduos vegetais na superficie do solo resultou em menores concentrações de NH₄⁺-N no PD (Aita et al., 2012). Provavelmente o consumo de NH₄⁺-N pode ser atribuído ao processo de nitrificação quando se verifica a acumulação de NO₃⁻-N no solo (Fig. 1c / d) bem como outros processos que provavelmente podem ocorrer (ou seja, volatilização de amônia, imobilização) (Aita et al. 2012., Dell al., 2012, Giacomini et al., 2013). Os picos nas concentrações de NH₄⁺-N no solo ocorreram nos dias 21 e 42 o que é coincidente com maior frequência e volumes de precipitação registrados durante este período. Outra

contribuição poderia ser oriunda da mineralização e do deslocamento dos fertilizantes orgânicos e dos resíduos culturais localizadas na superfície do solo na camada 0-0,10 m aumentando o acumulo de NH₄⁺-N nesses períodos (Meijide et al., 2009).

A concentração de NO3-N aumentou de 40 a 116 mg.kg⁻¹ entre os dias 7 e 21 que mostram não haver diferenças entre os tratamentos de preparo do solo (Fig 1c.). O NH₄⁺-N adicionado pelos tratamentos BIO, DLS e NMIN foi rapidamente nitrificado aumentando a quantidade de NO₃-N no solo (Fig. 1d). Os maiores teores de NO₃-N no solo nos tratamentos CTR e COMP verificados durante o mesmo relacionados período, provavelmente. estão ammonificação acoplada e nitrificação ou denitrificação heterotrófica do N orgânico derivado da mineralização da matéria orgânica do solo, palha de trigo e pelo COMP (Cai et al., 2010; Muhammad et al., 2011; Zhang et al., 2011; Zhang et al, 2015).

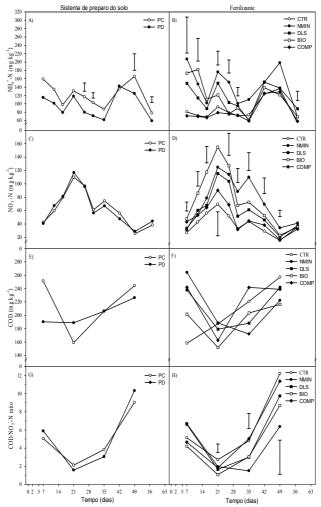


Figura 1 Teores de NH4+-N (a,b), NO3--N (c,d), COD (e,f) e a razão COD/NO3-N(g,h) na camada de 0 a 0,10 m de Nitossolo em função do tempo e de acordo com o Sistema de preparo do solo (a,c,e,g) e dos tratamentos de fertilização (b,d,f,h). PC sistema de plantio convencional e PD plantio direto CTR: Sem adubação; NMIN: Ureia; DLS: Dejeto líquido de suíno fresco; BIO: Digestato de Biodigestor e COMP: composto de dejeto líquido de suino em serragem. Barra de separação de médias denota significância para DMS pelo teste de Fischer (p<0,05). Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

Baixos valores de PPA (Fig. 3a) até o 19° dia (<0,6 cm3 cm-3), provavelmente tenha contribuído para reduzir taxa de denitrificação e consequentemente o consumo de NO₃⁻-N na camada de solo 0-0.10 m (para revisão ver Saggar et al, 2013). No entanto, a subsequente diminuição na concentração de NO₃⁻-N no solo estão relacionados com a redução da taxa de nitrificação do solo, devido à disponibilidade limitada de substrato (López-Fernandez et al, 2007, Giacomini et al, 2013, Aita et al, 2012, Aita et al., 2007, Dell et al., 2011) e a intensificação dos processos de denitrificação e lixiviação reforçada pelo progressivo aumento de volumes e frequência de precipitação e pelo PPA (Meijide et al., 2009).

Os conteúdos COD do solo apresentaram grande variação (151 a 264 mg kg⁻¹), no entanto não foram afetados pelos sistemas de preparo do solo ou tratamentos de fertilização (Fig. 1e / f). A concentração inicial de COD na camada de 0-0,10 m do solo diminuiu a partir do 7º ao 21º dia coincidentemente com as mais elevadas taxas de emissões de CO₂-C verificadas durante este período (Grave et al., 2015). A baixa temperatura do solo e PPA mais elevado no período posterior afetaram negativamente as taxas de respiração do solo, o que permitiu o acúmulo de metabólitos intermediários, como expresso na recuperação do conteúdo COD (Meijide et al., 2009). A relação COD/NO₃-N diminuiu a partir do 7º ao 21º dia, após a acumulação de NO₃-N e consumo de COD na camada de solo de 0-0,10 m (Fig 1 g / h). A tendência inversa foi observada subsequentemente. Os sistemas de preparo do solo não influenciaram na relação de COD/NO3-N, no entanto, nas subparcelas que receberam os tratamentos NMIN, DLS e BIO apresentaram menor relação COD/NO3-N nos dias 21 (DLS e BIO), 35 (NMIN, DLS e BIO) e 49 (NMIN) em relação a CTR

3.4.2. Genes catabólicos de nitrificação e denitrificação.

Durante a nitrificação, formas amoniacais de N (NH_{3 e} NH₄⁺) são reduzidos a NH₂OH e, em seguida, a NO₂⁻ e NO₃⁻, num processo catalisado pelas enzimas mono-oxigenase de amónio (AMO), oxidoredutase de hidroxilamina (HAO), e nitrito de oxidoredutase (NXR), respectivamente (para uma revisão, ver Giles et al., 2012). No entanto este NO₃ pode ser denitrificado para NO2 e, em seguida, a NO, N2O e N2 por intermédio das enzimas nitrato redutase (NAR), nitrito redutase (NIR), óxido nítrico redutase (NOR), óxido nitroso redutase (NOS), respectivamente (Giles et al., 2012). Para o presente estudo foram medidos a abundância dos genes amoA, narG, nirS, qnorB, e nosZ os quais codificam a expressão das enzimas AMO, NAR, NIR, NOR, e NOS, respectivamente para avaliar os processos de nitrificação e denitrificação que ocorrem ao longo do tempo de acordo com a perturbação do solo e tratamentos de fertilização (Abubaker et al., 2013, Giles et al., 2012). A concentração total de bactérias no solo foi estima a partir abundância do gene 16S rDNA (Abubaker et al., 2013).

Não foram detectadas alterações na abundância de genes 16S rDNA, qnorB e nosZ quanto ao sistema de preparo. tratamentos de fertilização ou data de amostragem (Fig 2 d / e / f). No entanto, a abundância do gene amoA (Fig. 2a) no solo foi maior no dia 35 em relação dia 7 (p<0,01 LSD de Fisher), indicando um aumento na atividade de bactérias nitrificantes durante este período. Porém, a presença do gene amo A não foi afetada por ambos os tratamentos, de sistema de preparo do fertilização. A população de de bactérias desnitrificadoras que abrigam o gene narG responsável pela redução de NO₃⁺ para NO₂⁻ (Fig. 2b) foi maior no dia 21 em relação aos dias 7 e 49 (p <0.01 LSD de Fisher). sincronizadamente com o teor de NO₃-N (Figura 1 c/d). Considerando que não foi detectado diferença entre os sistemas de preparo PD e PC, a abundância de gene narG foi maior nos

PD em comparação com os PC (p<0,05 LSD de Fisher) na média dos tratamentos de fertilização e dias de amostragens. Em contraste o conteúdo de NO₃-N no solo, a presença do gene *nar*G no solo não foi afetada pelos tratamentos de fertilização. A população de bactérias desnitrificantes responsáveis pela enzima nitrito redutases, expressa pela presença de gene *nir*S (Fig. 2D), foi mais elevado no PD quando comparado com PC (p<0,05 LSD de Fisher), indicando uma maior atividade denitrificante neste tratamento, enquanto que os tratamentos de fertilização e épocas de amostragens não apresentaram efeito sobre a abundância deste gene.

3.4.3. Emissões de N₂O-N

Não foi detectado interação entre sistemas de preparos do solo (Fig. 3a) e os tratamentos de fertilização (Fig. 3b-c) sobre o efluxo de N2O-N do solo. Os valores de emissão de N₂O-N variaram amplamente de 1,5 a 320,0 g ha⁻¹ dia⁻¹ e foram significativamente afetados pelo PPA do solo (Fig. 3a). O período com menores emissões de N₂O-N (<100 g ha⁻¹ dia⁻¹) foram registrados durante os primeiros 19 dias do experimento, período em que ocorreram baixos volumes de precipitação contribuindo para que os valores de PPA fossem <0,6 cm³ cm⁻ ³. O aumento da emissão de N₂O-N, no período seguinte, foi coincidente com a maior frequência e os maiores volumes de precipitação, resultando em valores de PPA >0,6 cm³ cm⁻³. As emissões diárias de N2O-N no PD foram consistentemente mais elevadas do que PC durante a maior parte do período de avaliação. Entre os tratamentos de fertilização, o aumento das emissões diárias de N₂O-N foi registrado nos primeiros 30 dias após a aplicação com DLS. As emissões diárias de N₂O-N em função dos tratamentos BIO, NMIN, COMP e CTR não se distinguiram durante o período avaliado.

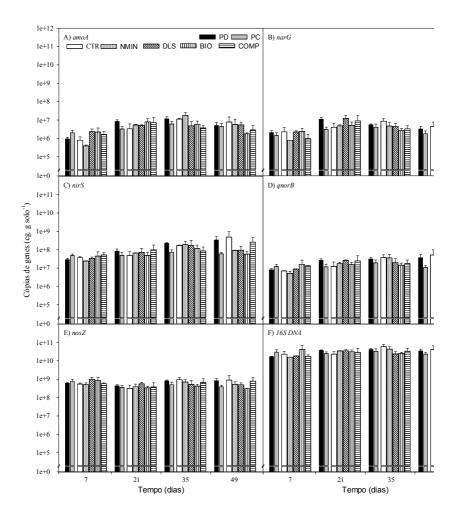


Figura 2 . Abundância dos genes *amoA* (a), *narG* (b), *nirS* (c), *qnorB* (d), *nosZ* (e) e *16S rDNA* (f) na camada de solo de 0 a 0,10 m de Nitossolo em quatro tempos após a aplicação os tratamentos : Sistema de preparo do solo e fertilização. PC sistema de plantio convencional e PD plantio direto CTR: Sem adubação; NMIN: Ureia; DLS: Dejeto líquido de suíno fresco; BIO: Digestato de Biodigestor e COMP: composto de dejeto líquido de suino em serragem. Barras de erro denotam o erro padrão das medias conforme os sistemas de preparo do solo (n=2) e dos tratamentos de fertilização (n=5)

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

Tabela 3 Emissão acumulada de N₂O-N do solo de acordo com os

tratamentos sistema o	de preparo e	fertilização.
-----------------------	--------------	---------------

Fertilizante -	Sistema	Valor de p DMS						
reitilizante –	PC	PD	de Fisher's					
kg ha ⁻¹								
CTR	$1,42\pm0,18$	$1,85\pm0,73$ c ⁽¹⁾	0,948					
NMIN	$1,87\pm0,72$	3,52±0,65 ab	0,120					
DLS	2,55±0,51 B	5,60±1,38 A a	0,050					
BIO	$2,10\pm0,40$	$2,94\pm1,18$ bc	0,606					
COMP	1,56±0,13 B	4,67±1,70 Aab	0,017					
Valor de p DMS	0,443	0,004						
de Fisher's	0,443	0,004	-					

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

PC sistema de plantio convencional e PD plantio direto CTR: Sem adubação; NMIN: Ureia; DLS: Dejeto líquido de suíno fresco; BIO: Digestato de Biodigestor e COMP: composto de dejeto líquido de suino em serragem. Médias (n=4) seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si para DMS pelo teste de Fischer (p<0,05).

A emissão acumulada de N₂O-N do DS variou de 1,4 a 2,5 kg ha-1 nos tratamentos CTR e DLS, respectivamente (Tabela 2). Embora não fossem encontradas diferenças significativas no sistema de PC entre os tratamentos de fertilização, a emissão acumulada de N2O-N foi claramente afetada pelas fontes de N no sistema de PD. As maiores emissões de N₂O-N foram registadas nos tratamentos DLS, COMP e NMIN $(5,6, 4,7, e 3,5 \text{ kg } N_2O-N \text{ ha}^{-1},$ respectivamente) em relação ao tratamento CTR (1,8 kg N₂O-N ha⁻¹). A emissão acumulada de N₂O-N do solo em sistema de PD fertilizado com BIO (2,9 kg N₂O-N ha⁻¹) foi semelhante ao CTR mas ainda comparável ao CS e UR tratamentos, respectivamente. Nenhuma diferença foi detectada na emissão acumulada de N₂O-N para os tratamentos CTR, NMIN e BIO quando consideramos contrastantes níveis de revolvimento do solo (PD e PC). No entanto, a emissão acumulada de N₂O-N no sistema de PD nas subparcelas que receberam os tratamentos

de fertilização com DLS e COMP foram de aproximadamente 120 e 200% superiores às verificadas no sistema de PC, respectivamente.

3.5. DISCUSSÃO

3.5.1. Fatores abióticos do solo e biomarcadores metabólicos.

A abundância do gene *amo*A que codifica a enzima AMO é usado para avaliar a atividade de nitrificação em uma ampla gama de ambientes, tais como solo, água e sedimentos (Rotthauwe et al., 1997). A transcrição do *amo*A é induzida pela presença de NH₄⁺-N, enquanto os inibidores de AMO previnem o uso de NH₃ como uma fonte de energia (ARP et al., 2002).

No entanto, em nosso estudo, não houve correlação entre os conteúdos NH₄⁺-N no solo e da abundância de genes amoA/16SrDNA (Tabela 3). Tais resultados podem estar relacionados ao solo originalmente apresentar altos conteúdos de NH_4^+ -N (> 60 mg NH_4^+ -N kg⁻¹ de solo; Fig. 1a / b), indicando que a adicão extra de NH₄⁺-N promovida pela fertilização mineral e orgânica tenha efeito limitado sobre o aumento na comunidade microbiana de nitrificantes e da taxa de nitrificação do solo (Vilain et al., 2014, Saunders et al., 2012, AITA?). No entanto, a concentração de amoA aumentou desde o dia 7 ao 35 (Fig. 2a), concomitantemente com a diminuição do conteúdo de NH₄⁺-N do solo durante o mesmo período (Fig 1a/b). A razão de amoA/16S rDNA se correlacionou com os teores NO₃-N solo, sugerindo que no nosso estudo a nitrificação tenha sido a principal via consumo para NH₄⁺-N

Tabela 4 Coficientes de Pearson obtidos pela correlação entre fatores abióticos do solo e a abundancia dos genes catabólicos da denitrificação e da denitrificação na camada de 0-0,10 m do solo (n=40).

Genes catabólicos de N-	Fatores abióticos do solo					
Genes catabolicos de IV –	PPA	NH ₄ ⁺ -N	NO ₃ N	COD		
amoA / 16S rDNA	0.395 ^b	-0.085	0.421a	-0.126		
narG / 16S rDNA	0.337^{b}	-0.097	0.388^{b}	-0.135		
nirS / 16S rDNA	0.326^{b}	-0.161	-0.259	0.137		
qnorB / 16S rDNA	0.315^{b}	-0.196	0.034	0.158		
nosZ / 16S rDNA	-0.464a	0.114	-0.420a	0.216		

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

a: p<0.01; b: p<0.05

PPA: proporção poros preenchidos com agua; NH₄-N:nitrogênio amonical; NO₃-N: nitrogênio nítrico; COD; cabono orgânico dissolvido.

As concentrações de gene narG que transcreve o processo de redução do NO3-N a NO2-N N indicando a atividade de denitrificação se correlacionou com a acúmulo e consumo de NO₃⁻-N no solo (Tabela 3). A população bactérias responsáveis pela redução de nitrato (narG/16SrDNA) aumentou em resposta à acumulação de NO₃-N (. Saggar et al, 2013) e ao aumento de PPA na camada 0-0,10 m do solo desde o dia 7 a 21, promovendo o consumo de NO₃-N durante o período seguinte (Fig. 1 e 2). A elevada taxa de desnitrificação do solo verificada após o dia 21 também corroborou com a crescimento da população de bactérias redutoras de nitrito e oxido nítrico (nirS/16SrDNA e norB/16SrRNA) quando sob maiores valores de PPA do solo (r = 0,326 e 0,315, respectivamente, p<0,05). Ambos os genes são expressos coordenadamente a fim de evitar o acumulo de NO2 e NO no solo pois ambos são citotóxicos às mesmas (Giles et al., 2012).

Em contraste, a abundância de bactérias redutoras de óxido nitroso que albergam o gene *nosZ* (*nosZ*/16S rDNA) teve correlação negativa com PPA do solo e com o teor de NO₃-N (r=-0,464 e -0,420, respectivamente, p<0,01). Entre as enzimas que catabolizam a denitrificação, a oxido nitroso redutase é codificada pelo gene *nosZ*, é a mais sensível à

inibição pela presença de O₂ e a produção de N₂ parece ser desprezável quando PPA <0,7 cm³ cm⁻³ (Panek et al, 2000;. Giles et al, 2012.). Assim, pode se observar que no nosso estudo a proporção de gene *nos*Z em relação ao 16S rDNA diminuiu no solo quando o valor de PPA estava na faixa de 0,4 a 0,7 cm³ cm⁻³. Além disso, o aumento do teor de NO₃-N no solo pode também diminuir a abundância do genes *nos*Z, pois o NO₃- é preferencialmente reduzido pelos denitrificadores devido ao ganho no rendimento energético ser mais elevado quando em comparação a redução de N₂O (Giles et al, 2012.).

A concentração de COD na camada 0-0,10 m do solo não apresentaram nenhuma correlação com qualquer um dos biomarcadores avaliados. Tais resultados seriam indicativos de nitrificação autotrófica como os principais processos para redução de NH₄⁺-N neste solo Além disso, o conteúdo de alta COD (> 150 mg DOC kg⁻¹ de solo) verificada em nosso estudo seria suficiente para suportar atividade de bactérias denitrificantes heterotróficos

3.5.2. Sistemas de preparo solo e as emissões de N_2O .

processos bióticos e abióticos Diversos envolvidos com a formação e emissão de N2O pelos solos. Os principais processos biológicos que controlam a emissão de N₂O pelos solos aerados são nitrificação heterotróficas e autotrófica. nitrificação-denitrificação acoplada (microrganismos de grupos distintos). nitrificaçãodenitrificação (dentro do mesmo grupo de microrganismo nitrificantes) e denitrificação (Bahl et al., 2013). Fatores abióticos de solo como por exemplo PPA, COD e N mineral, regularam a abundância das comunidades microbianas de nitrificantes e denitrificantes, como discutido na seção anterior, afetando também as emissões de N2O do solo (para revisão ver Giles et al., 2013).

Foram investigados os fatores abióticos do solo e das comunidades microbianas responsáveis pela nitrificação e denitrificação envolvidas na regulação das emissões de N₂O-N de acordo com o sistema de preparo do solo, utilizando-se a análise de correlação de Pearson (Tabela 3). Os tratamentos de solo com sistemas de preparo (PD e PC) nitidamente afetaram as emissões de N2O (Fig 3A). Entre os fatores abióticos do solo, o que mais afetou a emissão de N₂O foi a PPA (r = 0,753, p <0,001) no PD. No entanto, o conteúdo de NO₃-N e de COD (r = 0,667, p <0,01 e -0,572, p <0,01) e a razão DOC/NO₃-N (r = -0,459, p <0,05) foram os principais fatores abióticos que controlam emissão de N₂O no sistema de PC. A temperatura do solo e o conteúdo de NH₄⁺-N não apresentaram correlação significativa com as emissões de N₂O, independentemente dos tratamentos investigados.

Os valores de PPA do solo foram substancialmente maiores no sistema de PD quando em comparação com os do sistema PC, durante a maior parte do período avaliado (Fig. 3a). A presença de restos culturais na superfície do solo pode ter facilitado a infiltração de água de chuva e reduzido a evapotranspiração no sistema de PD, mas por outro lado, ocasionando uma impermeabilização da camada superficial do solo o que poderia ter prejudicado a infiltração de água no sistema de PC (Lanzanova et al., 2010). Estudos prévios relacionadas um aumento exponencial na emissão de N₂O em resposta ao decréscimo da disponibilidade O2 no solo, nitidamente quando o solo apresenta PPA > 0,6 cm³ cm⁻³ (Dobbie e Smith, 2003; Bateman e Baggs, 2005). A nitrificação autotrófica foi relatada como um dos principais processos que contribuem para a emissão de N2O, quando PPA do solo for <0.6 cm³ cm⁻³. No entanto, a denitrificação é o principal processo envolvido na emissão de N₂O quando o PPA do solo for > 0.6 cm³ cm⁻³ (Bateman e Baggs, 2005). Tais resultados poderiam indicar que diferentes processos estão modulando as emissões de N2O do solo em nosso estudo. Baixas e

semelhante taxas de emissão de N₂O-N foram verificadas nos tratamento PC e PD, até o 19° dia, quando o PPA do solo foi

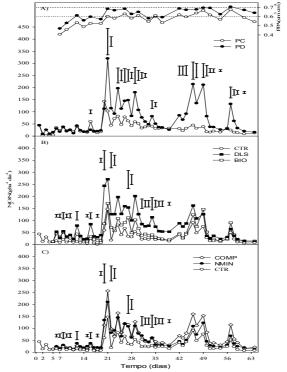


Figura 3 Proporção de poros preenchidos por agua (a) e emissões diárias de N_2O -N de acordo com o efeito do sistema de preparo do solo (a) e tratamentos de fertilização do solo (b, c). PC sistema de plantio convencional e PD plantio direto CTR: Sem adubação; NMIN: Ureia; DLS: Dejeto líquido de suíno fresco; BIO: Digestato de Biodigestor e COMP: composto de dejeto líquido de suino em serragem. Barra de separação de médias denota significância para DMS pelo teste de Fischer (p<0,05)

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

 $<0.6~\text{cm}^3~\text{cm}^{-3}$. Tais emissões são provenientes da nitrificação autotrófica e são concomitantes com o consumo de NH₄⁺-N e aparecimento de NO₃⁻-N na camada de 0,10 m do solo (Fig. 1-a / c e 3a). As mais elevadas emissões de N₂O verificados no período seguinte foram associados com o aumento da atividade microbiana de denitrificantes, estimulada pelo maior teor de

NO₃⁻-N e PPA médio do solo de 0,60 e 0,65 cm³ cm⁻³ no PC e PD, respectivamente.

Menores valores de PPA do solo podem ter limitado a contribuição da denitrificação nas emissões de N2O no sistema de PC. No entanto, as correlações observadas entre as taxas de emissões de N₂O e os conteúdos de NO₃⁻-N e COD e a razão sugerem que denitrificação ainda COD/NO₃-N significativo neste tratamento. Para denitrificação completa de NO₃- a N₂ é requerido a proporção de acetato para NO₃-N de 2,86, a partir de uma perspectiva teórica (Akunna et al., 1993). No entanto, uma maior proporção deve ser esperado, entre 2,8 a 4,1, devido ao C não contabilizado, mas necessário para a síntese celular. Estudos anteriores que avaliam a formação de N₂O a partir da digestão de DLS rico em amônia em um photobioreactor digerido água relataram emissões significativas quando a razão COT/NO3-N foi de 1,72 (. Mezzari et al, 2013). A adição de acetato aumentou a razão COT/NO₃-N de 1,72 para 4,47 e resultou na remoção imediata do N₂O. Identificamos que a razão COD/NO₃-N foram baixas na razão de 2.12 e 1.58 no dia 21 nos sistemas de PC e PD, respectivamente. Certamente estes resultados indicam ter havido uma potencial limitação para que o processo de denitrificação fosse completo durante este período, que foi coincidente com os picos nos valores de PPA do solo e as emissões de N₂O em ambos os sistemas de preparo PD e PC. O aumento da razão COD/NO3-N durante o período seguinte pode ter sido o suficiente para que ocorresse a denitrificação completa e diminuindo assim as taxas de emissão de N2O.

A correlação entre biomarcadores de nitrificação e denitrificação também confirmam que o processo de denitrificação representa o maior contribuinte para as maiores emissões de N₂O do solo neste estudo (Tabela 3). Correlações significativas entre a abundância de gene *nar*G, representado pela razão *nar*G/16S rDNA, responsável pela codificação enzimática que realiza a redução de NO₃- a NO₂- durante a

denitrificação, sendo que as emissões de N2O do solo foram identificados tanto para o sistema de PD (r = 0.528, p < 0.05) quanto para o PC (r = 0.505, p <0.05). O aumento na abundância de gene nosZ representado pela razão nosZ/16S rDNA, que codifica a enzima responsável pela redução de N₂O a N₂, teve correlação negativa com as emissões de N₂O do solo no sistema de PD. Mudanças na comunidade microbiana denitrificante foram promovidos pelo aumento PPA do solo e de disponibilidade de NO₃-N, resultando no truncamento do processo de denitrificação e a emissão de N₂O (Giles et al, 2012). A proporção de genes catabólicos nitrificadores e denitrificadores também poderiam ser utilizado como indicativo de transformação do N e da produção de N2O em uma ampla gama de ambientes, tais como solos, solos pantanosos ou materiais compostados (Angnes et al. 2013;. Čuhel et al, 2010;. Zhi e Ji, 2014). Experiências anteriores em escala de laboratório e de campo tem demonstrado correlações significativas para a razão nir\$/nosZ com as emissões de N2O. indicando denitrificação incompleta em solos agrícolas (Čuhel et al., 2010). A razão norB/nosZ também pode ser um indicativo de emissão de N2O durante o processo de compostagem de dejeto suino em leito de maravalha auxiliando para inferir que a produção de N₂O excedeu o consumo deste pelos desnitrificadores (Angnes et al., 2013).

Foi observado correlação significativa entre a razão *nar*G/*nos*Z e a emissão de N2O para ambos os sistemas de preparo, PD e PC (r = 0,730, p <0,001 e r = 0,465, p <0,465, respectivamente). Além disso, a proporção *qnor*B/nosZ também se correlacionou com emissões de N₂O para PD (r = 0,619, p <0,01). Estes resultados reforçam a ligação entre fatores abióticos do solo, comunidades de bactérias denitrificadoras e as emissões de N₂O. O aumento de PPA e do conteúdo de NO₃⁻-N no solo e da redução da razão COD/NO₃⁻-N favoreceu a população de bactérias redutoras de nitrato e a produção de N₂O, no entanto, prejudicou a população de

bactérias anaeróbicas denitrificantes, as quais reduzem estritamente N₂O a N₂. Com o truncamento do processo de denitrificação, a redução do NO₃- é incompleta, resultando no aumento das emissões de N₂O no solo. Os maiores coeficientes de correlação observados foram para a razão *nar*G/*nos*Z e *qnor*B/*nos*Z indicando que a denitrificação representa principal desencadeador para as emissões e de N₂O no sistema de PD. No entanto, denitrificação teve menor contribuição para as emissões de N₂O no PC condicionado principalmente pelos menores valores de PPA do solo.

3.5.3. Fontes de Nitrogênio e as emissões de N2O

Não foi observada correlação entre os tratamentos de fertilização (CTR, UR e ADS) e ou fatores bióticos ou abióticos do solo (Tabela 4). No entanto, o solo que recebeu o tratamento DLS mostrou emissões de N₂O significativamente correlacionados com ambos PPA do solo (r = 0,776, p <0,05), bem como para a razão narG/16S rDNA (r = 0,789, p <0,05). A aplicação do conteúdo do NH₄⁺ aumento do solo que foi prontamente reduzida para NO3-N (Fig. 1). Além disso, a adição de DLS também fornece C lábil e facilmente decomponível (Grave et al, 2015). Isso pode melhorar as taxas de denitrificação e de emissão de N₂O solo (Giles et al, 2012;

Rochette et al, 2000). Portanto, é plausível supor que a denitrificação incompleta desempenhou um papel importante na regulação das emissões de N₂O do solo tratados com DLS. Vários estudos relataram aumento nas emissões de N₂O do solo fertilizada com DLS em comparação com as outras fontes de N mineral, como a uréia utilizada em nosso estudo (Aita et al,

Tabela 5 Coficientes de Pearson obtidos pela correlação entre emissão N2O-N e os fatores abióticos do solo e da abundância dos genes catabólicos da nitrificação e denitrificação na camada de solo de 0-0,10 m de acordo com os tratamentos sistema de preparo do solo e de fertilização.

Danamataa	Sist. de preparo ¹		Fertilização ²				
Parametro -	PD	PC	CTR	NMIN	DLS	BIO	COMP
Temperatura do solo	-0,362	-0,055	-0,229	-0,227	-0,159	-0,341	-0,171
PPA	0,753a	0,302	0,553	0,452),776c	0,552	0,637
NH4+-N	0,372	0,017	0,250	-0,137	0,255	-0,186	0,130
NO3N	0,438	0,667b	0,420	0,371	0,567	0,398	0,409
COD	0,253	-0,572b	0,280	0,276	-0,197	-0,634	-0,065
COD / NO3N	-0,103	-0,459c	-0,081	-0,178	-0,366	-0,103	-0,035
Razão amoA/16S rDNA	0,113	-0,059	0,341	-0,273	-0,104	0,336	0,751c
Razão narG/16S rDNA	0,528c	0,505c	0,143	0,671	0,789c	0,328),870b
Razão nirS/16S rDNA	-0,018	-0,132	0,258	0,049	-0,263	-0,170	0,420
Razão qnorB/16S rDNA	0,242	-0,057	0,371	0,082	0,511	-0,390	0,626
Razão nosZ/16S rDNA	-0,604b	-0,303	0,277	-0,640	-0,363	-0,438	-0,333
Razão amoA/nosZ	0,311	0,058	0,391	0,102	-0,009	0,507	0,770c
Razão narG/nosZ	0,730a	0,465c	0,609	0,823c	0,760c	0,518	0,816c
Razão nirS/nosZ	0,160	0,174	0,334	0,568	0,031	-0,021	0,803c
Razão qnorB/nosZ	0,619b	0,246	0,563	0,677	0,510	0,146),942a

Fonte: Produção do próprio autor, 2016. a: p<0.001; b: p<0.01; c: p<0.05 PC sistema de plantio convencional e PD plantio direto CTR: Sem adubação; NPK: Ureia; DLS: Dejeto líquido de suíno fresco; BIO: Digestato de Biodigestor e COMP: composto de dejeto líquido de suino em serragem.. (1)n=20; (2)n=8.

2014;. Bertora et al, 2008;. Gonzatto et al, 2013;. Rochette et al., 2004). A emissão acumulada de N₂O no sistema de PD quando tratado com DLS foi de 202 e 59% superior aos tratamentos CTR e NMIN, respectivamente para o nosso estudo. Em contraste, o uso de BIO reduziu as emissões acumuladas de N₂O no sistema de PD em 47% em comparação com o DLS, limitando as taxas de entrada C lábil e nas taxas de desnitrificação no solo (Bertora et al, 2008;. Vallejo et al., 2006). Assim, o tratamento prévio do DLS pelo método de digestão anaeróbia demonstrou ser uma estratégia eficiente para reduzir as emissões de N₂O do solo, independentemente de sistemas de preparo do solo.

Apesar de emissão acumulada de N₂O no sistema de PD fertilizada com COMP fosse 17% inferiores DLS, o uso de COMP aumentou as emissões de N_2O em 140% comparativamente aos tratamentos fertilizados com BIO. Contrariamente, às outras fontes de N, as emissões de N₂O o solo que recebeu o tratamento COMP mostrou correlação significativa, para ambas as razões de genes, amoA/16S rDNA (r = 0.751, p < 0.05) e narG/16S rDNA (r = 0.870, P < 0.01). A codificação do gene amoA resposável pela expressão da enzima que fará a redução de NH₄⁺-N durante a nitrificação tanto autotrófica quanto heterotrófica, nos leva sugerir que ambos processos podem estar ocorrendo OS concomitantemente e contribuindo para as emissões de N₂O. Considerando que não tenha sido demonstrado previamente como uma importante fonte de N2O em solos agrícolas com baixo teor de matéria orgânica, a nitrificação heterotrófica (oxidação do N orgânica) parece ser a principal via de emissão

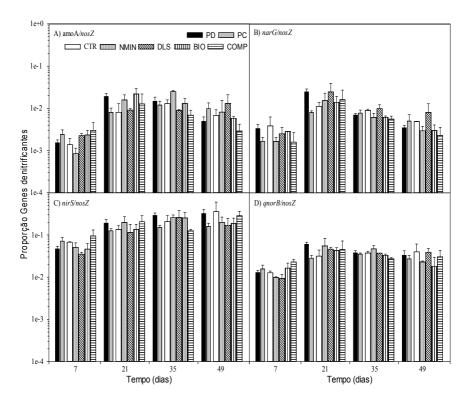


Figura 4. Razão entre genes catabólicos da nitrificação e denitrificação, *amoA/nosZ* (a), *narG/nosZ* (b), *nirS/nosZ* (c) and *qnorB/nosZ* (d) na camada de solo de 0 a 0,10 m de acordo com o Sistema de preparo do solo e dos tratamentos de fertilização PC sistema de plantio convencional e PD plantio direto CTR: Sem adubação; NMIN: Ureia; DLS: Dejeto líquido de suíno fresco; BIO: Digestato de Biodigestor e COMP: composto de dejeto líquido de suino em serragem. Barras de erro denotam o erro padrão das medias conforme os sistemas de preparo do solo (n=2) e dos tratamentos de fertilização (n=5)

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

de N₂O de solos agrícolas e florestais com pH baixo e alto teor de matéria orgânica (Cai et al, 2010; Zhang et al, 2011; Zhang et al, 2015). Assim, o perfil recalcitrante do COMP com alto teor de N orgânico poderia estar contribuido com o incremento na nitrificação heterotrófica e com a emissão de N₂O do solo, quando o PPA do solo variou de 0,6 a 0,7 cm³ cm⁻³ no sistema de PD. Os processos de nitrificação

heterotrófica e denitrificação, ambos tem contribuido para que se mantenham altas taxas de emissão de N₂O do solo fertilizado com COMP, atuando em sentido contrário do que seria de se esperar devido a baixa adição de N mineral por parte do COMP.

A maior emissão de N₂O no sistema de PD foi favorecido pelo aumento PPA do solo em associação com a adicão de C lábil e N necessários para que se mantenham altas taxas de denitrificação no solo (Rochette et al., 200) e N orgânico presente no COMP contribuiu para maiores emissões por intermédio de ambos os processos de nitrificação heterotrófica e da denitrificação. Assim, as estratégias para a mitigação das emissões de N₂O em solos agrícolas fertilizados com DLS devem ser associados ao tratamento prévio deste, e posteriormente ser aplicado aos solos como fertilizante, observando-se ainda, para que as condições de umidade no solo sejam baixas.

3.5.4. Conclusões

A aplicação de fonte de N orgânico estabilizado, como o COMP, contribui para a proliferação de comunidades de bactérias nitrificantes heterotróficas e consequentemente aumenta as emissões de N₂O, se comparado a outros adubos, com maiores proporções de NH₄⁺-N. O tratamento de dejetos de suínos por digestão anaeróbica (BIO) atua limitando a disponibilidade de C lábil o que consequentemente reduz as taxas de denitrificação do solo e por sua vez diminui as emissões de N2O, independentemente das práticas de preparo adotadas, isto, com (PC) ou sem (PD) revolvimento solo.

As emissões de $N_2{\rm O}$ do solo são reguladas por interações complexas entre fatores abióticos do solo e

abundância das comunidades de bactérias de nitrificantes e desnitrificantes.

A denitrificação é o principal bioprocesso que atua na regulação das emissões de N_2O do solo em ambos os sistemas de preparo, PC e PD. Os menores valores de PPA observados no sistema de PC proporciona menores emissões de N_2O do solo quando comparado com o PD.

4. PRODUTIVIDADE E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES PELO MILHO SOB FERTILIZAÇÃO MINERAL E ORGÂNICA EM DOIS SISTEMAS DE PREPARO DE SOLO.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência agronômica do DLS submetido à estabilização prévia por digestão anaeróbica (BIOF) e por compostagem (COMP) com o DLS não estabilizado e com ureia (NMIN) como fontes de nitrogênio para a cultura do milho conduzidos em dois sistemas de preparo do solo o PD e o PC. O experimento com delineamento experimental blocos ao acaso com parcela subdividida foi conduzido nas safras 2012/13, 2013/14 e 2014/15 com a cultura do milho. Nas parcelas principais foram avaliados: preparo convencional (PC) e plantio direto (PD). As subparcelas receberam: 140 kg N ha-1 na forma de uréia (NMIN), dejeto líquido de suínos (DLS), biofertilizante (BIOF), composto de dejeto suíno (COMP), e um tratamento controle sem adubação (CTR) A produtividade, no acumulado das safras, no PC foi 8,8% superior a do PD, devido a maior mineralização da MOS promovido pelo revolvimento do solo. O tratamento COMP apresentou produtividade acumulada nas safras avaliadas de 12%, 18% e 19% inferior aos tratamentos NMIN, DLS e BIO, respectivamente, e apenas 1,9% superior ao CTR. BIO pode ser recomendado como substituto da adubação mineral nitrogenada com uréia.

4.1. INTRODUÇÃO

A necessidade de adequação ambiental das unidades de produção intensiva de suínos tem motivado a adoção de tecnologias para o tratamento dos dejetos líquidos de suínos (DLS), de forma a diminuir sua carga poluidora. Entre as formas de tratamento mais difundidas no Brasil estão o processo de biodigestão anaeróbia e de compostagem (Kunz et al. 2014).

A biodigestão anaeróbia reduz a carga orgânica do DLS através da metanogênese, gerando ao final do processo um efluente líquido com concentração de nutrientes (NPK) similar a do DLS armazenado em esterqueiras. No caso da compostagem os nutrientes são concentrados em um fertilizante orgânico sólido (composto orgânico) e recalcitrante, com menor teor de umidade em relação ao DLS (Grave et al., 2015). Devido à adoção crescente destas tecnologias de tratamento de efluentes da suinocultura no Brasil, faz-se necessário o estudo do potencial destes fertilizantes em fornecer nutrientes para as culturas agrícolas para fins de recomendação de adubação.

Para o DLS, se estima que apenas 80 % do teor de nitrogênio total está disponível para o primeiro cultivo após a adubação (CQFS-RS/SC, 2004). Além disto, devido às elevadas perdas de N que ocorrem após a aplicação, não se considera que o dejeto líquido de suínos tenha efeito residual de N para o cultivo em sucessão. A menor eficiência dos fertilizantes orgânicos em relação aos fertilizantes minerais solúveis deve-se a forma como os nutrientes se encontram nestes efluentes. Bertrand & Arroyo (1984) na França, e Scherer et al. (1996) em Santa Catarina, analisaram 108 e 98 amostras de dejetos líquidos de suínos, respectivamente, e observaram que aproximadamente 60 % do nitrogênio estava na sua forma amoniacal, enquanto que os restantes 40 %

encontravam-se na forma orgânica. O nitrogênio amoniacal tem disponibilidade imediata para as culturas agrícolas quando aplicado ao solo, porém também está imediatamente sujeito a perdas por processos de volatilização de amônia, nitrificação lixiviação, desnitrificação ou superficial. No caso dos dejetos tratados por compostagem, o teor de N orgânico é superior a 90% (Agnes et al., 2013), o que pode impactar a disponibilidade de N para as culturas adubadas com este fertilizante. Giacomini & Aita (2008) observaram que a eficiência da cama sobreposta de suínos em fornecer nitrogênio para a cultura do milho sob sistema plantio direto foi 50% inferior à do DLS. No entanto, ainda não há carência de estudos disponíveis sobre a eficiência agronômica biofertilizante (DLS tratado por biodigestão) e composto orgânico (DLS tratado por compostagem) no Brasil. Assim, o objetivo deste estudo foi determinar o desempenho do biofertilizante e composto orgânico em comparação ao DLS e ureia em fornecer nitrogênio para a cultura do milho em diferentes sistemas de preparo do solo (preparo convencional e plantio direto).

4.2. HIPÓTESES E OBJETIVOS.

4.2.1. Hipóteses

A realização do tratamento prévio do DLS não provoca alterações suficientes para afetar a disponibilização de nutrientes no solo após a aplicação do resíduo no solo.

4.2.2. Objetivos

Avaliar a eficiência agronômica do DLS com e sem a estabilização prévia nos sistemas de preparo do solo PD e PC.

Comparar o DLS submetido à estabilização prévia por digestão anaeróbica e por compostagem com o DLS não estabilizado e com ureia como fontes de nitrogênio para a cultura do milho.

4.3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Embrapa Suínos e Aves em Concórdia-SC (27°18′53″S 51°59′25″O), nas safras 2012/13, 2013/14 e 2014/15 com o milho como cultura principal de verão e com o trigo (2012) e aveia preta (2013 e 2014) durante o inverno. O clima do local é o Cfa, conforme Köppen, e o solo é classificado como Nitossolo Vermelho distroférrico (Embrapa, 1999), No momento da implantação do experimento, o solo (0-10 cm) apresentava os seguintes teores de argila: 266,2 g kg⁻¹; pH-H₂O_(1:1): 5,3; pH-SMP: 5.8, MOS: 39,0 g kg⁻¹, P_{Mehlich-I}: 6,6 mg dm⁻³, K_{Mehlich-I}: 249,6 mg dm⁻³, Ca: 7,5 cmol_c dm⁻³, Mg: 3,3 cmol_c dm⁻³, CTC: 11,8 cmol_c dm⁻³ e V: 68,1%.

O delineamento experimental adotado foi blocos ao acaso com parcelas subdivididas e quatro repetições. Nas parcelas principais (10x50 m) foram avaliados dois sistemas de preparo do solo: preparo convencional (PC) e plantio direto (PD). As subparcelas (10x15 m) receberam os cinco tratamentos: 140 kg N ha⁻¹ na forma de ureia (NMIN), dejeto líquido de suínos (DLS), dejeto líquido de suínos tratado por biodigestão - biofertilizante (BIO), dejeto líquido de suínos tratado por compostagem – composto orgânico (COMP), além de um tratamento controle sem adubação (CTR). No PC, o solo foi mobilizado com uma passagem de arado de disco seguido de duas gradagens anteriormente à semeadura do milho e com duas gradagens anteriormente a semeadura das culturas de inverno, enquanto no PD, as culturas de verão e inverno foram semeadas sem mobilização do solo. A dose de 140 kg N ha⁻¹ aplicada via fertilizantes orgânicos foi calculada com base no teor de N total dos fertilizantes (Tabela 6). Os tratamentos foram distribuídos na superfície do solo em dose única logo após a semeadura do milho. O milho foi cultivado com espaçamento entre linhas de 0,80 m e população de 75 mil

plantas.ha⁻¹. A adubação fosfatada e potássica foi realizada quando necessário de modo a suprir 115 kg P₂O₅ ha⁻¹ e 77 kg K₂O ha⁻¹ para a cultura do milho em todos os tratamentos de acordo com CQFS-RS/SC (2004). As doses de N, P₂O₅ e K₂O aplicadas em cada tratamento são descritas na Tabela 7. Não foi realizada a aplicação de fertilizantes para as culturas de inverno. As culturas de inverno foram semeadas em linha com espaçamento entre linha de 0,17 m e a distribuição de 80 kg ha⁻¹ de sementes

Tabela 6 Teores de Matéria Seca, N-total, N-org, N-NH₄, e N-NO_x, e dose aplicada dos fertilizantes orgânicos utilizados no experimento nas safras 2012/13, 2013/14 e 2014/15.

2012/13, 20	15/110	201 1, 13	•					
	MS	N-total	N-org	N-NH ₄	$N-NO_x$	P_2O_5	K_2O	
Fertilizante				2012/13	3			Dose
	%			kg	m ⁻³		_	m³ ha-1
DLS	7,38	4,41	1,67	2,74	-	1,71	2,53	31,72
BIOF	6,52	5,17	2,55	2,62		7,25	1,07	27,09
	%	-		g k	g-1		-	Mg ha ⁻¹
COMPa	29,06	16,59	15,12	1,18	0,29	2,50	2,28	29,04
			2	2013/14				
	%			kg	m ⁻³		_	m³ ha-1
DLS	3,4	4,1	1,0	3,1	-	2,75	1,81	34,1
BIOF	1,2	2,5	0,4	2,1		0,46	1,44	54,8
	%	-		g k	g-1		-	Mg ha ⁻¹
COMP ^a	47,28	11,2	ND	0,53	ND	5,17	1,16	12,5
			2	2014/15				
	%kg m ⁻³							m³ ha-1
DLS	2,6	2,9	0,9	2,0	-	1,49	2,02	46,9
BIOF	1,3	1,8	0,5	1,3		1,02	1,04	75,5
% g kg ⁻¹								Mg ha ⁻¹
COMPa	42,09	9,48	8,68	0,35	0,45	2,40	1,34	14,8

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

[;] DLS: Dejeto líquido de suíno fresco; BIO: Digestato de Biodigestor e COMP: composto de dejeto líquido de suino em serragem

^aTeores de nutrientes expressos em base seca.

A produtividade do milho foi determinada através da amostragem da área útil das parcelas experimentais com a coleta das espigas de milho em 3,2 m² (quatro metros lineares) após a maturação fisiológica dos grãos. Os grãos foram pesados e a sua umidade foi determinada e posteriormente corrigida para 13% de umidade.

Para a determinação de biomassa acumulada da parte aérea (folha+colmo+espiga) foi coletado quatro plantas, dentro da área útil da parcela próximo ao estágio fenológico da maturação fisiológica e determinado o índice de colheita. As amostras de plantas coletadas foram secas em estufa de circulação forçada a 65°C por 48 horas e pesadas para a obtenção da massa seca. O grão foi separado do restante da parte aérea. Tanto do grão quanto do restante da parte aérea foi tomado uma sub-amostra representativa que foram moídas em moinho tipo Willye e determinado as concentrações de N por análise elementar pelo método "Dynamic Flash Combustion", em analisador elementar CHNS. E para determinação P e K foram tomadas amostras de 0,2 gramas de tecido vegetal que foram mineralizadas por digestão nítricoperclórica proporção de 3:1. Nos extratos, o P foi determinado pelo método do ácido ascórbico, o K, por fotometria de emissão de chama

Na safra 2013/14 foram coletadas amostras de solo até a profundidade de 10 cm de profundidade, sendo a primeira, coletada dois dias após a aplicação dos tratamentos e as demais a cada 30 dias aproximadamente o final do ciclo da cultura totalizando 5 coletas. Imediatamente após a coleta uma subamostra foi usada para determinação da umidade em estufa a 105° C durante 24 horas. O restante da amostra foi congelada para determinação de N mineral (N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻ + NO₂⁻) posteriormente.

Tabela 7 Aporte de C, N, P e K, adicionados aos tratamentos através dos fertilizantes orgânicos (FO) e complementados com fertilizante mineral, nas safras 2012/13, 2013/14 e 2014/15

Tratamento	N	P ₂ O ₅ -FO	P ₂ O ₅ -SFT	K ₂ O-FO	K ₂ O-KCl	C-FO		
	Kg ha ⁻¹							
			2012/13					
CTR	0	0	0	0	0	0		
NMIN	140	0	115	0	77	0		
DLS	140	54	61	80	0	920		
BIO	140	196	0	29	47	479		
COMP	140	211	0	192	0	2675		
			2013/14					
CTR	0	0	0	0	0	0		
NMIN	140	0	115	0	77	0		
DLS	140	94	21	62	15	532		
BIO	140	25	90	79	0	343		
COMP	140	306	0	69	8	1479		
	2014/15							
CTR	0	0	0	0	0	0		
NMIN	140	0	115	0	77	0		
DLS	140	70	45	95	0	436		
BIO	140	77	38	79	0	328		
COMP	140	156	0	87	0	2447		

FO= Fertilizante orgânico; SFT=Superfosfato triplo; KCl= Cloreto de potássio.; DLS: Dejeto líquido de suíno fresco; BIO: Digestato de Biodigestor e COMP: composto de dejeto líquido de suino em serragem Fonte: Produção Própria do Autor 2016

O processo de descongelamento das amostras consistia em deixar as mesmas à temperatura ambiente por no mínimo duas horas antes de se iniciar as análises. Para a extração de N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻ + NO₂⁻ adaptou-se a metodologia descrita por Tedesco et al. 1995 usando-se a proporção de 1:5 (g de solo: ml de KCl 2M/l). As soluções obtidas foram colocadas em agitador orbital por 30 minutos, seguido de repouso por 30 minutos. O sobrenadante foi filtrado para garantir uma solução límpida. Alíquotas foram usadas para a análise de N-NH₄⁺ realizando-se se a destilação pelo método micro-Kjeldahl (Keeney and Nelson, 1982), e para determinação de N-NO₃⁻ +

NO₂- foi usada a técnica de injeção em fluxo (FIA). Os valores de NO₂- situaram-se abaixo da capacidade de detecção do equipamento, considerando-se a não existência de NO₂- nas amostras de solo.

Para o cálculo da eficiência de uso do N foram utilizados diferentes índices de eficiência adaptado de Baligar et al., (2001):

PPF = PN / DN

Onde: PPF = produtividade parcial do fator (kg de grão por kg de N aplicado); PN = produtividade do tratamento com N fertilizante (kg ha-1 de grão); DN = dose de N fertilizante (kg ha-1 de N).

EAN = PN - PT / DN

Onde: EAN = eficiência agronômica do N (kg de grão por kg de N aplicado); PN = produtividade do tratamento com N fertilizante (kg ha⁻¹ de grão); PT = produtividade da testemunha (sem fertilização) (kg ha⁻¹ de grão); DN = dose de N fertilizante (kg ha⁻¹ de N).

ERN = NN - NT / DN

Onde: ERN = eficiência de recuperação aparente do N aplicado (kg de N absorvido por kg de N aplicado); NN = quantidade de N absorvido no tratamento com N fertilizante (kg ha⁻¹); NT = quantidade de N absorvido na testemunha (sem fertilização nitrogenada) (kg ha⁻¹); DN = dose de N fertilizante (kg ha⁻¹ de N).

EPN = PN - PT / NN - NT

Onde: EPN = eficiência fisiológica de produção do N absorvido (kg de grão por kg de N absorvido); PN = produtividade do tratamento com N fertilizante (kg ha⁻¹ de grão); PT = produtividade da testemunha (sem fertilização nitrogenada) (kg ha⁻¹ de grão); NN = quantidade de N absorvido no tratamento com N fertilizante (kg ha⁻¹); NT = quantidade de N absorvido na testemunha (sem fertilização nitrogenada) (kg ha⁻¹).

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância utilizando software SigmaPlot 12.5 (Systat Software Inc.) e as médias dos tratamentos foram comparados com significância para DMS pelo teste de Fischer (p<0,05).

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.3. Dinâmica do nitrogênio no solo sobre o acumulo de massa seca e produtividade do milho na safra 2013/14.

Os efeitos do fator sistema de preparo do solo e do fator fertilizante sobre as variáveis contúdo de NH₄⁺-N e NO₃⁻-N estão apresentados na Figura 5. A fertilização do solo com NMIN, BIO e DLS proporcionou um aumento nos conteúdos de NH₄⁺-N em ambos os sistemas de preparo PD e PC (até 203 mg kg⁻¹ aos 17 DAS), enquanto que a aplicação COMP não teve efeito sobre conteúdo de NH₄⁺-N no solo (81 mg kg⁻¹) comparativamente ao CTR com 93 mg kg⁻¹ de NH₄⁺-N. O melhor contato com o solo aumentou a mineralização dos fertilizantes orgânicos sob PC (Grave et al., 2015), em contra partida a presença de restos culturais sobre a superfície do solo promoveu a retenção parcial dos fertilizantes tendo como resultado menores concentrações de NH₄⁺-N no PD (Aita et al., 2012). Esta mesma condição foi observado no experimento com parcelas reduzidas, descrito na capítulo anterior. Provavelmente o consumo de NH₄⁺-N pode ser atribuído ao processo de nitrificação quando se verifica a acumulação de NO₃-N no solo (Figura 5 C / D) bem como outros processos que provavelmente podem ocorrer, primeiramente por absorção pelo sistema radicular da cultura do milho, ou ainda, por volatilização de amônia, imobilização (Aita et al, 2012., Dell et al., 2012, Giacomini et al., 2013). As concentrações de NH₄⁺-N foram decrescentes até o 41° DAS mantendo-se semelhantes e constantes até o final do experimento.

A concentração de NO₃-N foram significativamente maiores no sistema de PC do 41° ao 101° DAS com aumento das concentrações de 61 até 85 mg.kg⁻¹ do 17° ao 77° DAS, para então declinar até os 28 mg.kg⁻¹ diferentemente o

Tabela 8. Produtividade de grão e biomassa acumulada na parte aérea da cultura do milho em Nitossolo sob sistema de plantio direto (PD) e plantio convencional (PC) com fertilização mineral e orgânica a base de dejeto suíno nas safras, 2013/14.

	CTR	NMIN	DLS	BIO	COMP	Média			
Preparo			Mg.ha-	1					
		Produtividade de grão							
PC	8,9 b	9,8 b	11,7 a	11,4 ab	9,0 b	10,2 A			
PD	7,4 cd	9,0 bc	10,2 ab	10,7 a	7,4 d	8,9 B			
Média	8,1 c	9,4 b	10,9 a	11,0 a	8,2 c	9,5			
	Biomassa acumulada								
PC	7,2 b	8,5 ab	10,4 a	9,3 a	8,8 ab	8,8			
PD	6,8 c	8,9 ab	9,2 ab	9,8 a	7,7 bc	8,5			
Média	7,0 c	8,7 ab	9,8 a	9,5 ab	8,3 bc	8,6			

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

CTR= Sem adubação; NMIN=Ureia; DLS=Dejeto liquido de suíno; BIO=Digestato de Biodigestor e COMP=compostagem de dejeto liquido de suíno. Médias ligadas por letras distintas (minúsculas nas horizontais e maiúsculas na vertical) diferem pelo teste Fischer's (p≤0,05) Ausência de letras significa diferença não significativa.

tratamento PD iniciou com 58 mg.kg⁻¹ e decresceu continuamente até a 77° DAS (Figura 5 C.). A nitrificação do NH₄⁺-N adicionado pelos tratamentos BIO, DLS e NMIN causou o aumentando a quantidade de NO₃⁻-N no solo (Fig. 6 D).

Com comportamento contrário, os tratementos CTR e COMP apresentaram um declínio continuo dos teores de NO₃-até o 101° DAS, o que é diferente, do que foi observado no experimento com as parcelas reduzida apresentado no capítulo anterior, em que ocorreu um aumento nas concentrações de NO₃-N, nestes mesmos tratamentos. Tal comportamento

distinto entre os dois experimentos com mesmos tratamentos pode ser atribuído a presença de plantas, que realizaram a absorção do NO₃⁻-N coincidente com a fase de maior demanda pelas plantas de milho.

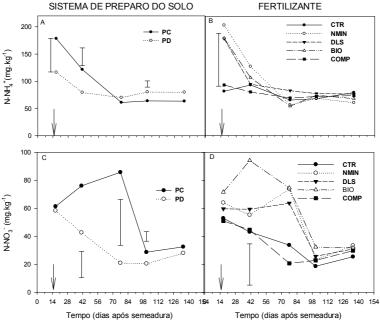


Figura 5 Variação da concentração de N-NH4+ e N-NO3- do solo em função do sistema de preparo do solo (A e C) e o tipo de fertilizante aplicado (B e D) na cultura do milho na safra 2013/14.). PC sistema de plantio convencional e PD plantio direto CTR: Sem adubação; NMIN: Ureia; DLS: Dejeto líquido de suíno fresco; BIO: Digestato de Biodigestor e COMP: composto de dejeto líquido de suino em serragem.

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

Para a safra 2013/14 os resultados de produtividade foram diferentes estatisticamente entre os sistemas PC e PD. O nitrogenio é o nutriente com maior demanda pela planta de milho, e consequentemente determinante para que se obtenha maiores produtividades. Desta forma a disponibilidade de em cultivo de milho com fertilização mineral e orgânica com

dejeto, observaram uma correlação positiva entre N mineral na forma de NO₃⁻-N presente na solução do solo e a produtividade de grãos de milho em diferentes tempos após a aplicação da fertilização. Esta constatação esta em concordância com as correlações obtidas entre as concentrações de NO₃⁻-N no solo e a produtividade de grãos de milho do presente estudo. As correlações foram positivas para as cinco deferentes datas de coleta do solo (Tabela 9). No entanto as concentrações de

Tabela 9 Coificientes de Pearson obtidos pela correlação entre produtividade do milho e a concentração de NH4+-N e NO3--N do solo na camada de 0 – 0,10 m do solo coletado aos 17, 41, 77, 101 e 135 DAS (n=40) na safra 2013/14.

DAS		
DAS	NH4+-N	NO3N
17	0,371b	0,302 ns p=0,0583
41	0,194 ns	0,466a
77	-0,219 ns	0,328a
101	0,0580 ns	0,422b
135	-0,194 ns	0,377a

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

a: p<0.01; b: p<0.05

DAS: Dias após a semeadura; NH4-N: nitrogênio amonical; NO3-N: nitrogênio nítrico;

NH₄⁺-N apresentaram correlação positiva somente na primeira amostragem de solo, imediadamente após a aplicação da fertilização. Isto evidencia por que a maior produtividade no PC, em que ocorrem as maiores concentrações de NO₃⁻-N no solo. A mineralização da formas minerais no solo são necessárias. Grohskopf et al., 2016 em cultivo de milho com fertilização mineral e orgânica com dejeto, observaram uma correlação positiva entre N mineral na forma de NO₃⁻-N presente na solução do solo e a produtividade de grãos de milho em diferentes tempos após a aplicação da fertilização. Esta constatação esta em concordância com as correlações obtidas entre as concentrações de NO₃⁻-N no solo e a

produtividade de grãos de milho do presente estudo. As correlações foram positivas para as cinco deferentes datas de coleta do solo (Tabela 9). No entanto as concentrações de NH₄⁺-N apresentaram correlação positiva somente na primeira amostragem de solo, imediadamente após a aplicação da fertilização. Isto evidencia por que a maior produtividade no PC (Tabela 8), em que ocorrem as maiores concentrações de NO₃-N no solo (Figura 5). A mineralização da matéria orgânica, estimulada pelo revolvimento do solo, contribui de forma importante no aumento da disponibilidade de NO3-N que se soma a que é adicionada pela aplicação dos fertilizantes orgânico ou mineral. Evidências que corroboram para esta afirmação, é o aumento da concentração de NO3-N no solo no tratamento CTR quando da ausência de plantas, e redução na concentração quando da presença das mesmas (Figura 1 e Figura 5 respectivamente).

4.4.4. Produtividade do milho e eficiência de uso do nitrogenio.

A análise estatística demonstrou não haver interação entre os fatores formas de preparo do solo e os tratamentos de fertilização. Entretanto, houve efeito principal desses fatores sobre as variáveis analizadas. As médias gerais de biomassa acumulada na parte aérea (Tabela 10) da cultura do milho nas três safras avaliadas foi de 20,96, 8,68 e 11,07 Mg.ha⁻¹ nas safras 2012/13, 2013/14 e 2014/15, respectivamente. Apenas na safra 2014/15 foi detectado diferença (18,2 %) entre os sistemas de preparo para biomassa acumulada.

As produtividades médias de grãos de milho nas safras 2012/13, 2013/14, 2014/15 foram 8,89, 9,58 e 10,5 Mg.ha⁻¹, respectivamente e a produtividade acumulada das três safras foi de 29,9 Mg.ha⁻¹. Os sistemas de preparo afetaram a produtividade, exceto na safra 2012/13, safra em que foi

observado menor precipitação (Apendice 1), o que pode ter limitado mineralização da MOS e o suprimento de N ao milho.

Tabela 10 Biomassa acumulada na parte aérea da cultura do milho em Nitossolo sob sistema de plantio direto (PD) e plantio convencional (PC) com fertilização mineral e orgânica a base de dejeto suíno nas safras 2012/13, 2013/14, 2014/15 e somatorio das três safras.

	CTR	NMIN	DLS	BIO	COMP	Média	
PREPARO			Mg.l	ha ⁻¹			
			Safra 2	2012/13			
PC	21,0	21,6	21,4	20,9	19,1	20,8	
PD	19,3	21,1	21,8	21,6	21,6	21,1	
Média	20,2	21,3	21,6	21,3	20,3	20,9	
			Safra 2	2013/14			
PC	7,2 b	8,5 ab	10,4 a	9,3 a	8,8 ab	8,8	
PD	6,8 c	8,9 ab	9,2 ab	9,8 a	7,7 bc	8,5	
Média	7,0 c	8,7 ab	9,8 a	9,5 ab	8,2 bc	8,6	
			Safra 2	2014/15			
PC	9,9 b	11,4 ab	12,6 ab	13,5 a	12,4 A ab	12,0 A	
PD	8,4 b	10,2 ab	12,5 a	11,5 a	7,9 B b	10,1 B	
Média	9,1 b	10,8 ab	12,6 a	12,5 a	10,2 b	11,1	
	Somatório						
PC	38,1	41,5	44,5	43,8	40,3	41,7	
PD	34,5 b	40,2 ab	43,6 a	42,9 a	37,3 ab	39,7	
Média	36,3 b	40,8 ab	44,1 a	43,4 a	38,8 b	40,7	

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

CTR= Sem adubação; NMIN=Ureia; DLS=Dejeto liquido de suíno; BIO=Digestato de Biodigestor e COMP=compostagem de dejeto liquido de suíno.

Médias ligadas por letras distintas (minúsculas nas horizontais e maiúsculas na vertical) diferem pelo teste Fischer's (p≤0,05) Ausência de letras significa diferença não significativa.

Observou -se menor produtividade no sistema de PD de 13,6, 13,4 % nas safras 2013/14 e 2013/14 respectivamente, e de 8,8 % no acumulado para as três safras (Tabela 10).

A biomassa acumulada na parte aérea (Tabela 10) variou entre 21,64 e 7,19 Mg.ha⁻¹ no tratamento PC NMIN e

PC CTR respectivamente e 21,84 e 6,83 Mg.ha⁻¹ nos tratamentos PD DLS e PD CTR respectivamente. Na safra 2012/13 foram apurados os maiores valores de biomassa acumulada da parte aérea (Tabela 10), os valores desta safra estão bem acima dos valores apurados por GIACOMINI; AITA, 2008 fertilizando a cultura do milho com DLS e cama sobreposta, obtiveram de 12,3 e 10,2 Mg.ha⁻¹ de matéria seca respectivamente. ARAÚJO et al., 2004 com adubação mineral obtiveram 12,3 Mg.ha⁻¹ com a dose de 120 kg.ha⁻¹ de N parceladamente. DAUDÉN; QUILEZ 2004, aplicado comparando adubação mineral (275 kg N.ha⁻¹) e diferentes doses de dejeto suíno (308 a 733 kg N.ha⁻¹) apuraram que na média de três safras a produção de massa seca da parte aérea da cultura do milho foi de 17,9 Mg.ha⁻¹, com os maiores valores na primeira safra (21,7 Mg.ha⁻¹) no entanto estes autores não detectaram diferencas entre tratamentos com adubação mineral nitrogenada e adubação com dejeto suíno. Para as safras 2013/14 e 2014/15 o acumulo de biomassa da parte aérea se manteve semelhante aos valores apurados no estudo de GIACOMINI; AITA, 2008 e ARAÚJO et al., 2004.

Na safra 2012/13 a biomassa acumulada do milho (Tabela 10) não foi detectado diferenças entre as médias dos tratamentos com fertilizantes. Nas demais safras bem como no acumulado das três safras predominou que, os tratamentos NMIN, DLS e BIO não apresentaram diferença entre si. GIACOMINI; AITA, 2008 também não detectaram diferença entre adubação mineral e dejetos líquidos suínos, considerando que no estudo destes autores a fertilização do N mineral foi parcelada em três vezes. Para os outros dois tratamentos, CTR e COMP, as médias destes não diferiram entre si, resultado também observado por GIACOMINI & AITA, 2008 que não detectaram diferença entre o tratamento controle, sem adubação e tratamento adubado com cama sobreposta, a qual tem como característica que o processo de compostagem acontece em situ (GIACOMINI & AITA, 2008), com 89% do

N total, estar na forma de nitrogênio orgânico. Este percentual é semelhante aos observados no composto de dejeto suíno usado no tratamento COMP em que o nitrogênio orgânico representou aproximadamente 91% do N total (Tabela 6). Na safra 2014/15, os tratamentos PC COMP e PD COMP diferiram entre si com biomassa acumulada de 12,46 e 7,97 Mg.ha⁻¹ (56,3%), respectivamente.

As produtividades de milho (Tabela 11) variaram entre 8,23 e 11,90 Mg.ha⁻¹ no tratamento PC COMP e PC BIO respectivamente, e entre 7,38 e 11,18 Mg.ha⁻¹ no tratamento PD COMP e PD BIO respectivamente nas três safras. Diferentemente da biomassa acumulada, na safra 2012/13 as produtividades de milho não foram as maiores. Apesar da literatura apontar que em anos com a ocorrência de déficit hídrico a produtividade das culturas em sistemas com PD apresentem maiores produtividades, esta vantagem, no entanto não foi detectado pela análise estatística quando se analisou a produtividade na safra 2012/13.

Para safra 2014/15 houve diferença significativa de 15,3% entre PC NMIN e PD NMIN, e de 27,7% entre PC COMP e PD COMP (Tabela 11). Este efeito de maior produtividade no tratamento PC NPK pode estar relacionado com o melhor contato da ureia com solo, diminuindo a volatilização de amônia e consequente disponibilização de maior quantidade de nitrogênio para absorção pelas plantas (Zanatta, 2009). Já para o caso do tratamento PC COMP, a produtividade do milho está relacionada com a característica recalcitrante deste fertilizante condicionado pelo processo de compostagem, o que reduz a taxa de mineralização dos nutrientes no solo (Grave et al., 2015). Quando o solo é revolvido a cada novo cultivo, o processo de mineralização dos nutrientes do composto adicionado ao solo nos anos anteriores é favorecido, o que favoreceu o aumento da produtividade do

Tabela 11 Tabela Produtividade de milho cultivado em Nitossolo sob sistema de plantio direto (PD) e plantio convencional (PC) com fertilização mineral e orgânica a base de dejeto suíno nas safras 2012/13, 2013/14, 2014/15 e somatorio das três safras.

	FERTILIZANTE						
_	CTR	NMIN	DLS	BIO	COMP	Média	
PREPARO			Mg.	ha-1			
	Safra 2012/ 13						
PC	8,7	9,2	9,1	8,86	8,2	8,8	
PD	8,4	9,3	9,6	9,21	8,6	8,9	
Média	8,5	9,2	9,1	9,03	8,4	8,8	
			Safra 2	013/14			
PC	8,9 b	9,8 b	11,7 a	11,4 ab	9,0 b	10,2 A	
PD	7,4 cd	9,0 bc	10,2 ab	10,7 a	7,4 d	8,9 B	
Média	8,1 c	9,4 b	10,9 a	11,0 a	8,2 c	9,5	
			Safra 2	014/15			
PC	9,8 b	11,5 A a	11,5 a	11,9 a	11,0 A ab	11,1 A	
PD	8,4 c	10,0 B ab	10,9 a	11,1 a	8,6 B bc	9,8 B	
Média	9,1 c	10,8 ab	11,2 a	11,5 a	9,8 bc	10,5	
	Somatório						
PC	27,5 b	30,6 ab	32,4 a	32,1 a	28,2 A b	30,2 A	
PD	24,3 b	28,4 a	30,2 a	31,1 a	24,6 B b	27,7 B	
Média	25,9 b	29,5 a	31,3 a	31,6 a	26,4 b	28,9	

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

CTR=Sem adubação; NMIN= Ureia; DLS=Dejeto liquido de Suino; BIO=Digestato de Biodigestor e COMP=compostagem de dejeto liquido de suino.

Médias ligadas por letras distintas (minúsculas nas horizontais e maiúsculas na vertical) diferem pelo teste Fischer's (p≤0,05) Ausencia de letras significa diferença não significativa.

milho no tratamento PC COMP ao longo dos anos. Por outro lado, nas parcelas PD COMP, o não revolvimento do solo reduz a taxa de mineralização deste fertilizante e promove a imobilização do C e N no solo, com potencial reflexo no aumento do estoque de MOS (Grave et al., 2015), mas limitando a eficiência agronômica do COMP em fornecer nitrogênio para a cultura do milho.

Nas safras 2013/14 e 2014/15 e no acumulado as diferenças foram significativas entre os tratamentos referentes as fontes de N (Tabela 11). Estes resultados evidenciam que os fertilizantes DLS e BIO, podem perfeitamente suprir a demanda de N em substituição ao mineral (NMIN). Na safra 2013/14 as médias de produtividade do milho foram 15,6 e 16,9% superiores para os tratamentos DLS e BIO, respectivamente, em relação ao NMIN (Tabela 11). Além do bom potencial fertilizante observado para o uso do biofertilizante como fonte de nutrientes para o milho, o tratamento do DLS por biodigestão também reduz as emissões de GEE durante o tratamento e também do solo adubado com este fertilizante em relação ao DLS (Grave et al., 2015)

No somatário das três safras a quantidade de N acumulado na parte aérea e de grão de milho foi 8% maior no sistema de PC quando em comparação ao PD (Tabela 12). Para as safras 2013/14 e 2014/15 estas diferenças entre os sistemas de preparos foram de 24 e 23% respectivamente. Entre os tratamentos de fertilização no somatório, os tratamentos NMIN, DLS e BIO não diferiram entre si na quantidade de N acumulado por area na parte aérea do milho. Este comportamento se repetiu nas safras 2013/14 e 2014/15, para estes três tratamentos.

Na safra 2013/14 o tratamento PC NMIN foi 30% maior no acumulo de N na parte aérea quando comparado ao PD NMIN, e o tratamento PC DLS foi 29% maior que o PD DLS. Comparando com o comportamento da concentração de nitrogênio mineral na camada superficial do solo apresentado na Figura 5 A / C, o sistema de PC apresentou maior disponibilidade N mineral o que se refletiu no maior acumulo de N na partea aérea do milho nos tratamentos PC NPK e PC DLS. Neste dois tratamentos o melhor contato da ureia e do DLS com solo possibilitou que rapidamente ao N presente nos dois fertilizantes fosse disponibilizado. No entanto nos tratamentos PD NPK e PD DLS a palha presente na superfície

Tabela 12. Nitrogênio acumulado na parte aérea e grão da cultura do milho cultivado em Nitossolo sob sistema de plantio direto (PD) e plantio convencional (PC) com fertilização mineral e orgânica a base de dejeto suíno nas safras 2012/13, 2013/14, 2014/15 e somatorio das três safras.

	FERTILIZANTE						
	CTR	NMIN	DLS	BIO	COMP	Média	
Preparo			kg.ha-1				
			Safra 2012	2/ 13			
PC	229	270,5	236,9	221,7	206,8	232,9	
PD	216,8	255,3	308,6	250,9	268,3	260,0	
Média	222,8	262,9	272,8	236,3	237,6	246,5	
			Safra 201	3/14			
PC	120,7 b	176,0 a A	199,1 a A	190,7 a	132,2 b	163,7 A	
PD	100,9 b	135,0 a B	154,1 a B	161,2 a	104,6 b	131,2 B	
Média	110,8 b	155,5 a	176,6 a	175,9a	118,4 b	147,5	
			Safra 201	4/15			
PC	166,9 b	218,2 a	218,8 a	236,7 a	205,3 a A	209,2 A	
PD	142,2 bc	184,0 ab	200,8 a	195,7 a	124,9 c B	169,5 B	
Média	154,5 b	201,1 a	209,8 a	216,2 a	165,1 b	189,3	
	Somatório						
PC	516,5 b	664,8 a	654,9 a	649,2 a	544,4 b	606,0 A	
PD	460,0 c	574,4 ab	663,6 a	607,9 a	497,9 bc	560,7 B	
Média	488,3 b	619,6 a	659,3 a	628,5 a	521,2 b	583,4	

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

CTR= Sem adubação; NMIN= Ureia; DLS=Dejeto liquido de suíno; BIO=Digestato de Biodigestor e COMP=compostagem de dejeto liquido de suíno.

Médias ligadas por letras distintas (minúsculas nas horizontais e maiúsculas na vertical) diferem pelo teste Fischer's (p≤0,05) Ausência de letras denota diferença não significativa.

do solo reteve boa parte dos fertilizantes aplicados limitando o seu contato com o solo (Aita et al., 2012), resultando que as transformações acontecessem sobre a palha mesmo e consequentemente ocorrendo perdas na forma de volatilização e/ou emissão de NH₃ e N₂O respectivamente. Giacomini et al 2013 observaram que as perdas por volatilização de amônia

com a aplicação de DLS sobre palha foi de até 10 % do total de N amoniacal aplicado pelo fertilizante.

Na safra 2014/15 foi detectado uma diferença significativa de 64% entre os tratamentos PC COMP e PD COMP.

Um estudo anterior, com fertilização nitrogenada em milho com 140 kg⁻¹ de N obteve valores de EAN variando de 16 a 26 kg kg⁻¹ (Melchiori et al., 2005). No presente estudo o índice EAN variou na media das três safras de 1,2 a 13,6 kg.kg⁻¹ para COMP e BIOF respectivamente (Tabela 13). Segundo Dobermann (2005), os valores EAN geralmente variam de 10 a 30 kg kg⁻¹, e valores acima de 30 kg kg⁻¹ representam sistemas agrícolas bem manejados

Os valores do indice ERN na media (Tabela 13) situou se entre 0,08 e 0,41 kg kg⁻¹ para os tratamentos COMP e DLS respectivamente o esperado é que este índice situa-se entre 0,3 e 0,5 kg kg⁻¹, e em sistemas com fertilização nitrogenada bem manejadas entre 0,5 e 0,8 kg kg⁻¹ (Dobermann, 2005). Para o índice de EPN, os valores apurados na media das três safras variou entre 15,6 e 40,8 kg kg⁻¹ para COMP e BIOF são geralmente relatados valores entre 30 e 60 kg kg⁻¹, no entanto, em sistemas de fertilização nitrogenada bem manejados, os valores devem ser maiores do que 60 kg kg⁻¹ (Dobermann, 2005).

Os índices contidos na Tabela 13 apontam o tratamento COMP com os menores índices de eficiência de uso do nitrogênio e situando-se abaixo do que seria o ideal. Isto reforça a limitação do COMP em disponibilizar N para as plantas. O tratamento BIOF resultado da estabilização do DLS por biodigestão não interfere no desempenho do mesmo como fonte de nitrogênio assim como o seu potencial em mitigar a emissão de GEE.

Tabela 13. Indices de eficiência de uso do nitrogênio para a cultura do milho em função da fertilização mineral e orgânica a base de dejeto suíno no somatório das três safras (2012/13, 2013/14, 2014/15) sob sistema de plantio direto (PD) e plantio convencional (PC).

	NMIN	DLS	BIOF	COMP	Média			
PREPARO		- Kg de grã	o por Kg d	e N aplicado)			
			PPF					
PC	73,1	77,2	76,5	67,3	73,5			
PD	67,7	72,1	74,2	58,7	68,2			
Média	70,4	74,6	75,4	63,0	70,8			
			EAN					
PC	7,4	11,6	10,9	1,7	7,9			
PD	9,8	14,2	16,3	0,8	10,3			
Média	8,6	12,9	13,6	1,2	9,1			
			EPN					
PC	21,1	35,2	34,6	25,1	29,0			
PD	36,0	29,2	46,4	8,6	30,1			
Média	27,6	31,6	40,8	15,6	32,1			
		ERN						
PC	0,35	0,33	0,32	0,07	0,27			
PD	0,27	0,48	0,35	0,09	0,30			
Média	0,31	0,41	0,33	0,08	0,28			

Fonte: Produção própria do autor, 2016.

NMIN= Ureia; DLS=Dejeto liquido de Suino; BIOF=Digestato de Biodigestor e COMP=compostagem de dejeto liquido de suino.

PPF = produtividade parcial do fator; EAN= eficiência agronômica do N; ERN= eficiência de recuperação aparente do N aplicado; EPN= eficiência fisiológica de produção do N absorvido.

4.5. CONCLUSÕES

A produtividade do milho foi maior no sistema de preparo convencional em relação ao sistema plantio direto devido a maior taxa de mineralização da MOS e dos fertilizantes orgânicos que promoveram maiores teores de N-NO3 disponível no solo.

- O DLS e o BIOF (dejeto tratado por biodigestão) apresentam produtividade de grãos de milho e eficiência agronômica de nitrogênio similar à da ureia em ambos os sistemas de preparo do solo.
- O COMP (dejeto tratado por compostagem) tem menor eficiência agronômica como fonte de N para a cultura do milho em comparação à uréia, BIOF e DLS devido a sua elevada recalcitrância e baixa taxa de mineralização do COMP, reduzindo a disponibilidade de N no solo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. Relatório Anual ABPA 2016. **ABPA** 2016. 136p. Disponível http://abpa-br.com.br/storage/files/versao_final_para_envio_digital_1925a _final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web1.pdf. Acesso em 10/06/2016.

ABUBAKER, J., CEDERLUND, H., ARTHURSON, V., & PELL, M. (2013). Bacterial community structure and microbial activity in different soils amended with biogas residues and cattle slurry. **Applied Soil Ecology**, 72, 171–180. http://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.07.002

AITA, C., GIACOMINI, S. J., & HÜBNER, A. P. (2007). Nitrificação do nitrogênio amoniacal de dejetos líquidos de suínos em solo sob sistema de plantio direto. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira,** 42(3), 95–102. http://doi.org/10.1590/S0100-204X2007000100013

AITA, C., RECOUS, S., CARGNIN, R.H.O., LUZ, L.P., GIACOMINI, S.J., 2012. Impact on C and N dynamics of simultaneous application of pig slurry and wheat straw, as affected by their initial locations in soil. **Biol. Fertil. Soils** 48:633-642.

AITA, C.; GIACOMINI, S.J.; HÜBNER, A.P. Nitrificação do nitrogênio amoniacal de dejetos líquidos de suínos em solo sob sistema de plantio direto. **Pesq. Agropec. Bras**. 42(1):95-102, 2007.

- ANGNES, G., NICOLOSO, R.S., DA SILVA, M.L.B., OLIVEIRA, P.A.V., HIGARASHI, M.M., MEZZARI, M.P., MILLER, P.R.M., 2013. Correlating denitrifying catabolic genes with N₂O and N₂ emissions from swine slurry composting. **Biores. Technol**. 140:368-375.
- ANGONESE, A.R.; CAMPOS, A.T.; WELTER, R.A. Potencial de redução de emissão de equivalente de carbono de uma unidade suinícola com biodigestor. **Eng. Agric.**, 27(3):648-657, 2007.
- BAHL, K.B-.,BAGGS, E.M., DANNENMANN, M., KIESE, R., BOLTENSTERN, S.Z-., 2013. Nitrous oxide emissions from soils: how well do we understand the processes and their controls? **Phil. Trans. R. Soc.** B368: 20130122
- BALIGAR, V. C.; FAGERIA, N. K.; HE, Z. L. Nutrient Use Efficiency in Plants. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 32, n. 7-8, p. 921–950, 2001. Disponível em: http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1081/CSS-100104098.
- BATEMAN, E.J., BAGGS, E.M., 2005. Contributions of nitrification and denitrification to N₂O emissions from soils at different water-filled pore space. **Biol. Fertil. Soils** 41:379-388.
- BAYER, C.; GOMES, J.; ZANATTA, J. A.; VIEIRA, F. C. B.; PICCOLO, M. D. C.; DIECKOW, J.; SIX, J. Soil nitrous oxide emissions as affected by long-term tillage, cropping systems and nitrogen fertilization in Southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, v. 146, p. 213–222, 2015. Disponível em: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S01671987140022 07>.

- BAYER, C. Desafios no manejo da matéria orgânica e seqüestro de C no solo na agricultura conservacionista (Palestra). In: **XXXI Congresso Brasileiro de Ciência do Solo.** Gramado. 2007.
- BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUK, J.; PAVINATO, A.; DIECKOW, J. Carbon sequestration in two Brazilian Cerrado soils under no-till. **Soil and Tillage Research**., 86:237-245, 2006.
- BAYER. C; MIELNICZUK, J.; AMADO, T.J.C.; MARTIN-NETO, L.; FERNANDES, S.V. Organic matter storage in a sandy clay loam Acrisol affected by tillage and cropping systems in southern Brazil. **Soil Tillage Research**., 54:101–109, 2000.
- BERTORA, C., ALLUVIONE, F., ZAVATTARO, L., VAN GROENIGEN, J.W., VELTHOF, G., GRIGNANI, C., 2008. Pig slurry treatment modifies slurry composition, N₂O, and CO₂ emissions after soil incorporation. **Soil Biol. Biochem**. 40:1999-2006.
- BLANES-VIDAL, V.; HANSEN, M.N.; PEDERSEN, S.; ROM, H.B. Emissions of ammonia, ethane and nitrous oxide from pig houses and slurry: Effects of rooting material, animal activity and ventilation flow. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, 124: 237-244, 2008.
- BRONDANI, J.C. Biodigestores e biogás: balanço energético, possibilidades de utilização e mitigação de gases de efeito estufa. **Dissertação de Mestrado** Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, 2010. 118p.
- CAMBARDELLA, C.A., & E.T. ELLIOT. Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 56:777–783. 1992.

- CERRI, C.C.; CERRI, C.E.P. Agricultura e aquecimento global. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, 32:40-44, 2007.
- CERRI, C.C.; CERRI, C.E.P.; DAVIDSON, E.A.; BERNOUX, M.; FELLER, C. A ciência do solo e o seqüestro de carbono. **Boletim Informativo**. SCBS, 29:29-34, 2004.
- CFQS-RS/SC COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO RS/SC. Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. 10. ed. Porto Alegre: **SBCS Núcleo Regional Sul**/UFRGS, 2004, 400 p.
- CHADWICK, D.R.; PAIN, B.F.; BROOKMAN, S.K.E. Nitrous oxide and methane emissions following application of animal manures to grassland. **Journal of Environmental Quality**, 29:277-287, 2000.
- CHANTIGNY, M. H.; ROCHETTE, P.; ANGERS, D. A. Short-term C and N dynamics in a soil amended with pig slurry and barley straw: a field experiment. **Canadian Journal of Soil Science**, 81(2):131-137, 2001.
- CHANTIGNY, M.H., ANGERS, D.A., ROCHETTE, P., Fate of carbon and nitrogen from animal manure and crop residues in wet and cold soils. **Soil Biol. Biochem**. 34:509–517, 2002.
- CHANTIGNY, M.H., ROCHETTE, P., ANGERS, D.A., Short-term C and N dynamics in a soil amended with pig slurry and barley straw: a field experiment. **Can. J. Soil Sci.** 81:131-137. 2001.
- CHEN, Y.R. Kinetic Analysis of Anaerobic Digestion of Pig Manure and its Design Implications. **Agricultural Wastes**, 8:65-81, 1983.

- CHUNG, H.; GROVE, J.H.; SIX, J. Indications for soil carbon saturation in a temperate agroecosystem. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, 72:1132-1139, 2008.
- CONCEIÇÃO, P.C.; BOENI, M.; DIECKOW, J.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Fracionamento densimétrico com politungstato de sódio em estudos de proteção física da matéria orgânica do solo. **R. Bras. Ci. Solo**, 32:541-549, 2008.
- ČUHEL, J., ŠIMEK, M., LAUGHLIN, R.J., BRU, D., CHÈNEBY, D., WATSON, C.J., PHILIPPOT, L.,2010. Insights into the effect of soil pH on N₂O and N₂emissions anddenitrifier community size and activity. **Appl. Environ. Microbiol.** 76, 1870–1878.
- DAVIDSON, E.A. 2009. The contribution of manure and fertilizer nitrogento atmospheric nitrous oxide since 1860. **Nature Geosci**. 2:659-662.
- DELL, C. J., KLEINMAN, P. J. A., SCHMIDT, J. P., & BEEGLE, D. B. 2012. Low-Disturbance Manure Incorporation Effects on Ammonia and Nitrate Loss. **Journal of Environment Quality**, 41(3), 928
- DENEGA, J.L. Emissão de óxido nitroso e dióxido de carbono após aplicação de dejetos de suínos e bovinos em um Argissolo. Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, 2009. 93p. (Dissertação de Mestrado)
- DIEKOW, J.; MIELNICZUK, J.; KNICKER, H.; BAYER, C.; DICK, D.P. & KOGEL-KNABNER, I. Carbon and nitrogen stocks in physical fractions of a subtropical Acrisol as influenced by long-term no-till cropping systems and N fertilisation. **Plant and Soil**, 268:319-328, 2005.

DOBBIE, K.E., SMITH, K.A., 2003. Nitrous oxide emission factors for agricultural soils in Great Britain: the impact of soil water-filled pore space and other controlling variables. **Glob. Change Biol.** 9:204-218.

DOBERMANN, A. Nitrogen use efficiency – State of the art. In.: **IFA International Workshop On Enhanced-Efficiency Fertilizers**, Frankfurt, 2005. p.28- 30.

EGHBALL, B.; POWER, J.F. Composted and non-composted manure application to conventional and no-tillage systems: corn yield and nitrogen uptake. **Agron. J.**, 91:819-825, 1999.

ELLERT, B.H.; BETTANY, J.R. Calculation of organic matter and nutrients stored in soils under contrasting management regimes. **Can. J. Soil Sci.** 75:529–538, 1995.

ELLERT, B.H.; JANZEN, H.H.; ENTZ, T. Assessment of a method to measure temporal change in soil carbon storage. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, 66:1687–1695, 2002.

ELLERT, B.H.; JANZEN, H.H.; MCCONKEY, B.G. Measuring and comparing soil carbon storage. p. 131–146. In R. Lal et al. (ed.) **Assessment methods for soil carbon**. Lewis imprint of the CRC Press, Boca Raton, FL, 2000.

EMBRAPA. Manual de métodos de análises de solo. 2.ed. Rio de Janeiro, **Ministério da Agricultura e do Abastecimento**, 1997. 212p.

EMBRAPA. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Brasília: EMBRAPA, 1999. 412 p.

FABRIZZI, K.P.; RICE, C.W.; AMADO, T.J.C.; FIORIN, J.; BARBAGELATA, P.; MELCHIORI, R. Protection of soil

organic C and N in temperate and tropical soils: effect of native and agroecosystems. **Biogeochem**., 18:147-163, 2009.

FIALA, N. Meeting the demand: An estimation of potential future greenhouse gas emissions from meat production. **Ecological Economics**, 67:412-419, 2008.

FIRESTONE, M.K. & DAVIDSON, E.A. Microbiological basis of NO and N₂O production and consumption in soil. In: Andreae, M.O. and Schimel, D.S. (Eds.), **Exchange of Trace Gases Between Terrestrial Ecosystems and the Atmosphere.** Wiley, Chichester, pp.7-21, 1989.

FORSTER, P.; RAMASWAMY, V.; ARTAXO, P.; BERNTSEN, T.; BETTS, R.; FAHEY, D.W.; HAYWOOD, J.; LEAN, J.; LOWE, D.C.; MYHRE, G.; NGANGA, J.; PRINN, R.; RAGA, G.; SCHULZ M.; VAN DORLAND, R. Changes in Atmospheric Constituents and in Radiative Forcing. In: Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M.Tignor and H.L. Miller (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2007.

FUKUMOTO, Y.; OSADA, T.; HANAJIMA, D.; HAGA, K. Patterns and quantities of NH₃, N₂O and CH₄ emissions during swine manure composting without forced aeration—effect of compost pile scale. **Bioresource Technology**, 89:109-114, 2003.

GIACOMINI, S. J., AITA, C., PUJOL, S. B., &MIOLA, E. C. C. (2013). Transformações do nitrogênio no solo após adição de dejeto líquido e cama sobreposta de suínos. **Pesquisa**

- **Agropecuaria Brasileira**, 48(1), 211–219. http://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000200012
- GIACOMINI, S.J.; AITA, C. Cama sobreposta e dejetos líquidos de suínos como fonte de nitrogênio ao milho. **R. Bras. Ci. Solo**, 32:195-205, 2008a.
- GIACOMINI, S.J.; AITA, C. Emissão de dióxido de carbono após aplicação de dejetos líquidos e cama sobreposta de suínos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 43(1):107-114, 2008b.
- GIACOMINI, S.J.; JANTALIA, C.P.; AITA, C.; URQUIAGA, S.S.; ALVES, B.J.R. Emissão de óxido nitroso com a aplicação de dejetos líquidos de suínos em solo sob plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**., 41(11):1653-1661, 2006.
- GILES, M., MORLEY, N., BAGGS, E.M., DANIELL., T.J., Soil nitrate reducing processes drivers, mechanisms for spatial variation, and significance for nitrous oxide production. **Front. Microbiol.** 3:407, 2012.
- GRAVE, R.A., NICOLOSO, R.S., CASSOL, P.C., AITA, C., CORRÊA, J.C., DALLA COSTA, M., FRITZ, D.D., 2015. Short-term carbon dioxide emission under contrasting soil disturbance levels and organic amendments. **Soil Till Res**. 146:184-192.
- GULDE, S.; CHUNG, H.; AMELUNG, W.; CHANG, C.; SIX, J. Soil carbon saturation controls labile and stable carbon pool dynamics. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, 72:605–612, 2008.
- HUGGINS, D.R.; BUYANOVSKY, G.A.; WAGNER, G.H.; BROWN, J.R.; DARMODY, R.G.; PECK, T.R.; LESOING, G.W.; VANOTTI, M.B.; BUNDY, L.G. Soil organic C in the tallgrass prairie-derived region of the Corn Belt: Effects of

- long-term crop management. **Soil and Tillage. Research.**, 47:219–234, 1998.
- IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. Fourth Assessment Report: Climate Change 2007 (AR4) Disponivel em: http://www.ipcc.ch/publications_and_data/ar4/wg1/en/contents.html. Acesso em: 30/10/2012
- KOGA, N.; SAWAMOTO, T.; TSURUTA, H. Life cycle inventory-based analysis of greenhouse gas emissions from arable land farming systems in Hokkaido, northern Japan. **Soil Science and Plant Nutrition**, 52:564-574, 2006.
- KONG, A.Y.; SIX, J.; BRYANT, D.C.; DENISON, R.F.; VAN KESSEL, C. The relationship between carbon input, aggregation, and soil organic carbon stabilization in sustainable cropping systems. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, 69:1078–1085, 2005.
- KUNZ, A.; MIELE, M.; STEINMETZ, R.L.R. Advanced swine manure treatment and utilization in Brazil. **Bioresource Technology**, 100:5485-5489, 2009.
- LA FARGE, B. Le biogaz: procédés de fermentation méthanique. Paris: Masson, 1995. 237p.
- LAGUË, C. **Greenhouse gas emissions and the swine industry**. Disponível em http://www.thepigsite.com/articles/?Display=1083. Acesso em 01/07/2011.
- LAL, R. Agricultural activities and the global carbon cycle. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, 70:103-116, 2004.
- LINN, D.M., DORAN, J.W., Effect of water-filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and nontilled soils. **Soil Sci. Soc. Am. J**. 48:1267-1272. 1984.

LÓPEZ-FERNÁNDEZ, S., DÍEZ, J. A., HERNÁIZ, P., ARCE, A., GARCÍA-TORRES, L., & VALLEJO, A. Effects of fertiliser type and the presence or absence of plants on nitrous oxide emissions from irrigated soils. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, 78(3), 279–289. 2007. http://doi.org/10.1007/s10705-007-9091-9

LOURENÇO, K.S.; CORRÊA, J.C.; ERNANI, P.R.; LOPES, L.S.; REBELATTO, A. Eficiência de liberação de nutrientes por fertilizantes orgânicos com cama de aves na cultura do feijão. **Anais: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, 33. 2011. 4p.

LOVATO, T.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C. & VEZZANI, F. Adição de carbono e nitrogênio e sua relação com os estoques no solo e com rendimento do milho em sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 28:175-187, 2004.

MACHADO, P.L.O.; BODDEY, R.; MADARI, B.; RODRIGUES, J.R.; URQUIAGA, S. Os solos brasileiros e o sequestro de carbono. **Boletim Informativo**. SCBS, 29:21-25, 2004.

MARCATO, C.E., MOHTAR, R., REVEL, J.C., POUECH, P., HAFIDI, M., GUIRESSE, M., Impact of anaerobic digestion on organic matter quality in pig slurry. **Int. Biodeter. Biodegr.** 63:260–266. 2009.

MARLAND, G.; PIELKE JR., R.A.; APPS, M.; AVISSAR, R.; BETTS, R.A.; DAVIS, K.J.; FRUMHOFF, P.C.; JACKSON, S.T.; JOYCE, L.A.; KAUPPI, P.; KATZENBERGER, J.; MACDICKEN, K.G.; NEILSON, R.P.; NILES, J.O.; NIYOGI, D.S.; NORBY, R.J.; PENA, N.; MIKHA, M.M.; RICE, C.W. Tillage and manure effects on soil and aggregate-associated carbon and nitrogen. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, 68:809-816, 2004.

MARQUINA, S., PÉREZ, T., DONOSO, L., GIULIANTE, A., RASSE, R., & HERRERA, F. NO, N2O and CO2 soil emissions from Venezuelan corn fields under tillage and notillage agriculture. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 101, n. 1, p. 123-137, 2015.

MEIJIDE, A., GARCÍA-TORRES, L., ARCE, A., & VALLEJO, A. Nitrogen oxide emissions affected by organic fertilization in a non-irrigated Mediterranean barley field. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, 132(1-2), 106–115. 2009. http://doi.org/10.1016/j.agee.2009.03.005

MELCHIORI, R.; CAVIGLIA, O.; BIANCHINI, A.; FACCENDINI, N. & RAUN, W. Avances en la utilización de sensores remotos para manejo de nitrógeno de maíz. In: **National Congresso Of AAPRESID**, 14., Rosário, 2005. Proceedings... Rosário, 2005. p.155-160.

MUHAMMAD, W., VAUGHAN, S.M., DALAL, R.C., MENZIES, N.W., Crop residues and fertilizer nitrogen influence residue decomposition and nitrous oxide emission from a Vertisol. **Biol. Fertil. Soils** 47:15-23. 2011.

NICOLOSO, R.S. Estoques e mecanismos de estabilização da matéria orgânica do solo em agroecossistemas de clima temperado e subtropical. Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, 2009. 109p. (Tese de Doutorado)

NICOLOSO, R.S., BAYER, C., DENEGA, G.L., OLIVEIRA, P.A.V., HIGARASHI, M.M., CORREA, J.C., LOPES, L.S., 2013. Gas chromatography and photoacoustic spectroscopy for the assessment of soil greenhouse gases emissions. **Ciência Rural** 43:262-269.

- OLIVEIRA, P.A.V. (Coord.) Manual de manejo e utilização dos dejetos de suínos. Concórdia: **EMBRAPA-CNPSA**, 1993. 188p. (EMBRAPA-CNPSA. Documentos, 27).
- OLIVEIRA, P.A.V. Comparison des systèmes d'élevage dês porcs sur litière de sciure ou caillebotis integral. 1999. 272p. **Thèse** (Docteur) Rennes, France. (L'ÉNSA, N.99-24, d-32).
- OLIVEIRA, P.A.V.; CASTILHO JUNIOR, A.B.; NUNES, M.L.A.; HIGARASHI, M.M. Compostagem usada para o tratamento de dejetos de suínos. In: Congresso latino americano de suinocultura, 2; Congresso de suinocultura do Mercosul, 4, 2004. Foz do Iguaçu. **Anais**. Campinas: Editora Animal World, 2004. p.522-523.
- PANEK, J.A, MATSON, P.A., ORTÍZ-MONASTERIO, I., BROOKS, P., 2000. Distinguishing nitrification and denitrification sources of N₂O in a Mexican wheat system using 15N.**Ecol. Appl**. 10:506-514.
- PAUL, J.W.; RIDDLE, C.W.; THOMPSON, A.; FLEMING, R.; MACALPINE, M. Composting as strategy to reduce greenhouse gas emissions. Disponível em http://agrienvarchive.ca/bioenergy/download/compost_ghg_paul.pdf Acesso em 3 de Dezembro de 2010.
- PAUSTIAN, K., ANDREN, O., JANZEN, H.H., LAL, R., SMITH, P., TIAN, G., TIESSEN, H., VAN NOORDWIJK, M., WOOMER, P. Agricultural soils as sink to mitigate CO2 emissions. **Soil Use Manage**. 13, 230–244, 1997.
- PETERSEN, S. O., AND S. G. SOMMER. 2011. Ammonia and nitrous oxide interactions: Roles of manure organic matter management. **Anim. Feed Sci. Technol**. 166–167:503–513.

POST, W.M.; IZAURRALDE, R.C.; MANN, L.K.; BLISS, N. Monitoring and verifying soil organic carbon sequestration. p. 41–66. In N.J. Rosenberg et al. (ed.) Carbon sequestration in soils: science, monitoring, and beyond. Battelle Press, Columbus, OH, 1999.

RAJAGOPAL, R.; BÉLINE, F. Nitrogen removal via nitrite pathway and the related nitrous oxide emission during piggery wastewater treatment. **Bioresource Technology**, 102:4042-4046, 2011.

RICE, C.W. Introduction to special section on greenhouse gases and carbon sequestration in agriculture and forestry. **J. Environ. Qual.**, v.35, p.1338-1340, 2006.

ROBERTSON, G.P.; GRACE, P.R. Greenhouse gas fluxes in tropical and temperate agriculture: The need for a full-cost accounting of global warming potentials. **Environment, Development and Sustainability**, 6:51-63, 2004.

ROCHETTE, P., CHADWICK, D.R., DE KLEIN, C.A.M., CAMERON, K., 2012. Global Research Alliance on Agricultural Greenhouse Gases: Nitrous oxide chamber methodology guidelines, Version 1.0. de Klein, C.A.M., Harvey, M. (Eds.) **Chapter 3 (Deployment protocol)** (www.globalresearchalliance.org/research/livestock/activities/n itrous-oxide-chamber-methodology-guidelines/)

ROCHETTE, P., CHANTIGNY, M.H., ANGERS, D.A., BERTRAND, N., COTE, D., 2001. Ammonia volatilization and soil nitrogen dynamics following fall application of pig slurry on canola crop residues. **Can. J. Soil Sci.** 82:515–523.

ROCHETTE, P.; BOCHOVE, E. van; PRÉVOST, D.; ANGERS, D.A.; CÔTÉ, D.; BERTRAND, N. Soil carbon and nitrogen dynamics following application of pig slurry for the

- 19th consecutive year. 2. Nitrous oxide fluxes and mineral nitrogen. **Soil Science Society of America Journal**, 64:1396-1403, 2000.
- SÁ, J.C.M., CERRI, C.C., DICK, W.A., LAL, R., VENSKE-FILHO, S.P., PICCOLO, M.C., FEIGL, B.E. Organic matter dynamics and carbon sequestration rates for a tillage chronosequence in a Brazilian Oxisol. **Soil Sci. Soc. Am. J.** v.65, p.1486–1499, 2001.
- SAGGAR, S., JHA, N., DESLIPPE, J., BOLAN, N.S., LUO, J., GILTRAP, D.L., FIM, D.-G., ZAMAN, M., TILLMAN, R.W., 2013.Denitrification and N₂O:N₂ production in temperate grasslands: Processes, measurements, modelling and mitigating negative impacts. **Sci. Total Environ.** 465:173-195.
- SAMPSON, N.; XUE, Y. The climatic impacts of land surface change and carbon management, and the implications for climate-change mitigation policy. **Climate Policy**, 3:149-157, 2003.
- SARDÁ, L.G.; HIGARASHI, M.M.; MULLER, S.; OLIVEIRA, P.A.V.; COMIN, J.J. Redução da emissão de CO₂, CH₄ e H₂S através da compostagem de dejetos suínos. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental,** 14(9):1008–1013, 2010.
- SAS Institute Inc. SAS/STAT® 9.2 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc, 2008.
- SAUNDERS, O. E., FORTUNA, A. M., HARRISON, J. H., COGGER, C. G., WHITEFIELD, E., & GREEN, T. (2012). Gaseous nitrogen and bacterial responses to raw and digested dairy manure applications in incubated soil. **Environmental Science and Technology,** 46(21), 11684–11692. http://doi.org/10.1021/es301754s

- SAVIOZZI, A.; LEVI-MINZI, R.; RIFFALDI, R.; VANNI, G. Role of chemical constituents of wheat straw and pig slurry on their decomposition in soil. **Biology and Fertility of Soils**, 25:401-406, 1997.
- SCHERER, E.E.; AITA, C.; BALDISSERA, I.T. Avaliação da qualidade do esterco líquido de suínos da região Oeste Catarinense para fins de utilização como fertilizante. Florianópolis, **EPAGRI**, 46 p. (Boletim Técnico, 79), 1996.
- SCHILS, R.L.M.; VERHAGEN, A.; AARTS, H.F.M.; SEBEK, L.B.J. A farm level approach to define successful mitigation strategies for GHG emissions from ruminant livestock systems. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, 71:163-175, 2005.
- SCHMIDT, E.L. Nitrification in soil. In: Stevenson, F.J. (Ed.), Nitrogen in agricultural soils. **Am. Soc. Agronomy**, Madison, Wisconsin, pp. 253-288, 1982.
- SHARPE, R.R.; HARPER, L.A.; BYERS, F.M. Methane emissions from swine lagoons in Southeastern US. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, 90:17-24, 2002.
- SIX, J.; BOSSUYT, H.; DEGRYZE, S.; DENEF, K. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. **Soil and TillageResearch**. 79:7-31, 2004.
- SIX, J.; ELLIOTT, E.T.; PAUSTIAN, K.; COMBRINK, C. Soil structure and organic matter. I. Distribution of aggregate-size classes and aggregate-associated carbon. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 64: 681–689, 2000.
- SIX, J.; FELLER, C.; DENEF, K.; OGLE, S.M.; SÁ, J.C.A. & ALBRECHT, A. Soil organic matter, biota and aggregation in

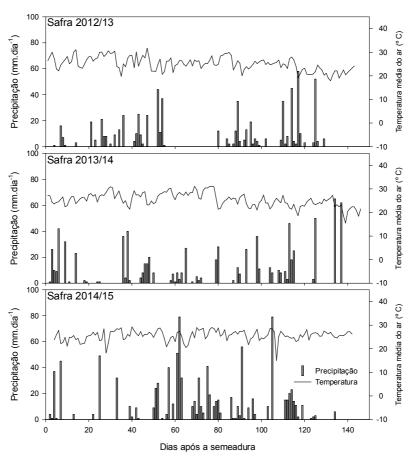
- temperate and tropical soils effects of no-tillage. **Agronomie**, 22: 755–775, 2002.
- SIX, J.; JASTROW, J.D. Soil Organic Matter Turnover. In R. Lal (Ed.). **Encyclopedia of Soil Science**, Marcel Dekker, NY. pp. 936-942, 2002.
- SIX, J.; OGLE, S.M.; BREIDT, F.J.; CONANT, R.T.; MOSIER, A.R.; PAUSTIAN, K. The potential to mitigate global warming with no-tillage management is only realized when practiced in the long term. **Global Change Biology**, 10:155-160, 2004a.
- SMITH, P.; MARTINO, D.; CAI, Z.; GWARY, D.; JANZEN, H.; KUMAR, P.; MCCARL, B.; OGLE, S.; O'MARA, F.; RICE, C.; SCHOLES, B.; SIROTENKO, O. Agriculture. In Climate Change 2007: Mitigation. Contribution of Working Group III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [B. Metz, O.R. Davidson, P.R. Bosch, R. Dave, L.A. Meyer (eds)], Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2007.
- TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análises de solo, plantas e outros materiais.** 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5).
- THOMPSON, A.G.; WAGNER-RIDDLE, C.; FLEMING R.; MACALPINE, M. Emissions of nitrous oxide and methane from composting liquid swine manure. **ASAE** Conference Paper, 2001.
- URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.R.; JANTALIA, C.P.; BODDEY, R.M. Variações nos estoques de carbono e emissões de gases de efeito estufa em solos das regiões

- tropicais e subtropicais do Brasil: uma análise crítica. **Informações Agronômicas** 130: 12-21, 2010.
- VILAIN, G., GARNIER, J., DECUQ, C., &LUGNOT, M. 2014. Nitrous oxide production from soil experiments: Denitrification prevails over nitrification. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, 98(2), 169–186. http://doi.org/10.1007/s10705-014-9604-2
- WAGNER, Marcus V. et al . Estimativa da produtividade do milho em função da disponibilidade hídrica em Guarapuava, PR, Brasil. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.**, Campina Grande , v. 17, n. 2, p. 170-179, Feb. 2013 . Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-43662013000200008&lng=en&nrm=iso. access on 05 Apr. 2016.
- WULF, S., M. MAETING, AND J. CLEMENS. 2002. Application technique and slurry co-fermentation effects on ammonia, nitrous oxide, and methane emissions after spreading: II. Greenhouse gas emissions. **J. Environ. Qual.** 31:1795–1801.
- YAMULKI, S.; JARVIS, S.C. Automated chamber technique for gaseous flux measurements: Evaluation of a photoacoustic infrared spectrometer-trace gas analyzer. **Journal of Geophysical Research**, 104:5463-5469, 1999.
- YAMULKI,S., JARVIS, S.C., 1999. Automated chamber technique forgaseous flux measurements: Evaluation of a photoacousticinfraredspectrometer-trace gas analyzer. **J.Geophys.Res**. 104:5463-5469.
- YANG, X.M., DRURY, C.F., REYNOLDS, W.D., MCKENNEY, D.J., TAN, C.S., ZHANG, T.Q., FLEMING, R.J., 2002. Influence of composts and liquid pig manure on

- CO₂ and N₂O emissions from a clay loam soil. **Can. J. Soil Sci.** 82: 395-401.
- YANG, X.M.; DRUY, C.F.; REYNOLDS, W.D.; McKENNEY, D.J.; TAN, C.S.; ZHANG, T.Q.; FLEMING, R.J. Influence of composts and liquid pig manure on CO₂ and N₂O emissions from a clay loam soil. **Canadian Journal of Soil Science**, 82:395-401, 2002.
- ZANATTA, J.A.; FERNANDES, A.H.B.M.; CARVALHO, A.M.; ALVES, B.J.R.; BAYER, C.; OLIVEIRA, P.P.A.; FRIGHETTO, R.T.S.; OLIVEIRA, T.; COSTA, F.S. Protocolo para medição de fluxos de gases de efeito estufa. **Rede Agrogases**. Embrapa, 2010.
- ZHANG, J.; MÜLLER, C.; CAI, Z. Heterotrophic nitrification of organic N and its contribution to nitrous oxide emissions in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 84, p. 199–209, 2015. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071715000735.
- ZHANG, Q.; ZHOU, X.J.; CICEK, N; TENUTA, M. Measurement of odour and greenhouse gas emissions in two swine farrowing operations. Canadian Biosystems Engineering, 49: 6.13-6.20, 2007.
- ZHI, W., JI, G., 2014.Quantitative response relationships between nitrogen transformation rates and nitrogenfunctional genes in a tidal flow constructedwetland under C/N ratio constraints. **Water Res**. 64:32-41.
- ZINN, Y.L.; LAL, R; BIGHAM, J.M.; RESCK, D.V. Edaphic controls on soil organic carbon retention in the brazilian cerrado: soil structure. **Soil Sci. Soc. Am. J**. 71: 1215-1224, 2007.

ZOTARELLI, L.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S.; TORRES, E.; SANTOS, H.P.; PAUSTIAN, K.; BODDEY, R.M.; SIX, J. Impact of tillage and crop rotation on aggregate-associated carbon in two oxisols. **Soil Sci. Soc. Am. J**,. 69: 482–491, 2005.

APÊNDICE A



Precipitação pluviométrica diária e temperatura média diária do ar ocorrida no período de cultivo da cultura do milho nas safras 2012/13, 2013/14 e 2014/15. Dados da Estação Meteorológica da Embrapa Suínos e Aves.

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.