



Mineralização do nitrogênio no solo sob Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas, em Paranaguá, PR- Brasil

Everaldo dos SANTOS^{1*}, Kelly Geronazzo MARTINS², Renato MARQUES³

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná, Paranaguá, Paraná, Brasil.

²Universidade Estadual do Centro Oeste, Irati, Paraná, Brasil. (Orcid: 0000-0002-0447-4444)

³Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil. (Orcid: 0000-0003-3011-6672)

*E-mail: everaldo.santos@ifpr.edu.br (Orcid: 0000-0003-0068-1670)

Recebido em 07/03/2020; Aceito em 07/08/2020; Publicado em 28/08/2020.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi compreender a dinâmica da mineralização do nitrogênio (N) do solo, nas diferentes estações do ano, em Espodosolo sob Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas, no litoral do Paraná. Foram feitos dois ensaios de mineralização do nitrogênio, um aeróbico e outro anaeróbico, com amostras de solo coletadas nas profundidades 0-5 e 5-10 centímetros (cm). No anaeróbico as amostras de solo foram submetidas ao processo de incubação/extração em período sequencial de 0, 15, 30, 45, 60 e 75 dias, sendo a incubação feita com solução nutritiva, em estufa a 30 graus Celsius (° C) a extração de nitrogênio inorgânico com soluções de Cloreto de Potássio (KCl) e as determinações de N inorgânico por leitura em espectrofotômetro ultra violeta visível (UV-VIS) a 210 nanômetros (nm) para (nitrito) e pelo método do endofenol (amônio) descrito por Waring e Bremner (1964); APHA (1995). No aeróbico as amostras foram secas a 30° C, sendo feita uma primeira extração de N inorgânico com soluções de KCl. Depois disso, as amostras foram umedecidas a 30 por cento (%) e incubadas a 19,8 °C em câmara fitoclimática por 15 dias. Diariamente foi feita leitura de respiração do solo e, ao final, foi feita nova extração com KCl. Alíquotas dos dois extratos obtidos foram então transferidas para microplacas para leitura de nitrito e amônio (Rodríguez et al., 2009). A análise estatística foi realizada com teste paramétrico com teste de Duncan ($p < 0,10$) para os resultados de mineralização anaeróbica. A mineralização do N no solo mostrou-se influenciada pelas estações do ano e suas variáveis meteorológicas, além da umidade do solo. As temperaturas mais elevadas favoreceram a atividade microbiológica, a umidade do solo quando excessiva resulta em menor nitrificação e maior amonificação. Os ensaios de mineralização anaeróbico e aeróbico mostraram-se como ferramentas importantes para a identificação do efeito estacional e na profundidade de coleta sobre a mineralização de N no solo.

Palavras-chave: carbono; respiração do solo; amonificação; nitrificação; processo de mineralização.

Mineralization of nitrogen in the soil under Atlantic Rainforest Dense Ombrophylous of the Lowland, in Paranaguá, PR – Brazil

ABSTRACT: The objective of this work was to understand the dynamics of soil nitrogen mineralization in the different seasons of the year in Spodosol under Atlantic Rainforest Dense Ombrophylous of the Lowland in the Paraná state coast. Two nitrogen mineralization tests, one aerobic and one anaerobic, were performed at depths 0-5 and 5-10 centimeters (cm) in Spodosol under Dense Ombrophylous Lowland. The anaerobic test, soil samples were subjected to the incubation /extraction process in a sequential period of 0, 15, 30, 45, 60 and 75 days, with incubation being carried out with nutrient solution, in an oven at 30 degrees Celsius (° C) the extraction of inorganic nitrogen with solutions of Potassium Chloride (KCl) and the determination of inorganic N by reading in a visible ultra violet spectrophotometer (UV-VIS) at 210 nanometers (nm) for (nitrite) and by the endophenol (ammonium) method described by Waring and Bremner (1964); APHA (1995). The aerobic test, the samples were dried at 30° C, with a first extraction of inorganic N with KCl solutions. After that, the samples were moistened at 30 percent (%) and incubated at 19.8 °C in a phytoclimatic chamber for 15 days. The soil breath was read daily and, at the end, a new extraction was done with KCl. Aliquots of the two extracts obtained were then transferred to microplates for reading nitrite and ammonium (Rodríguez et al., 2009). Statistical analysis was performed with parametric test with Duncan's test ($p < 0.10$) for the results of anaerobic mineralization. The mineralization of N in the soil was shown to be influenced by the seasons and its meteorological variables, in addition to soil moisture. Higher temperatures favored microbiological activity, and excessive soil moisture results in less nitrification and greater ammonification. The anaerobic and aerobic mineralization tests proved to be important tools for the identification of the seasonal effect and the depth of collection in the mineralization of N in the soil.

Keywords: carbon; soil respiration; ammonification; nitrification; mineralization process.

1. INTRODUÇÃO

A entrada do nitrogênio no ciclo biológico ocorre via N atmosférico (NIU et al., 2016; RODRIGUES et al., 2017). E a ciclagem do nitrogênio ocorre principalmente ao nível do solo onde os microrganismos participam ativamente do processo de mineralização do N da matéria orgânica associado aos fatores abióticos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; GARCÍA-VELÁZQUEZ et al., 2020). O carbono e o nitrogênio, fornecidos pela matéria orgânica depositado no piso florestal, e a dinâmica de mineralização está associada a qualidade deste material (CARVALHO et al., 2017; RODRIGUES et al., 2017). O Nitrogênio potencialmente mineralizável é definido como a fração do N orgânico do solo suscetível à mineralização Carvalho et al. (2017), sendo que parte do N inorgânico mineralizado pode ser novamente imobilizado em formas orgânicas. Assim, o N mineralizado é o saldo líquido entre mineralização e a imobilização de N (QUAN et al., 2015; SILVA et al., 2017). Na mineralização do N, as formas orgânicas do nitrogênio são convertidas em amônio (NH_4) e depois em nitrato (NO_3) via nitrificação por bactérias nitrificantes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; QUAN et al., 2015). O aumento das concentrações de N inorgânico no solo, que ocorre quando a demanda de N por microrganismos é reduzida, representa a mineralização líquida (NIU et al., 2016; PEREIRA et al., 2017); e a produção do NO_3 tende a ser maior em solos com maior disponibilidade de oxigênio e a desnitrificação em condições anóxicas do solo (NIU et al., 2016; PAJARES; BOHANNAN, 2016; RODRIGUES et al., 2017). A desnitrificação é o processo de oxidação biológica do nitrato ou nitrito que formará N_2O , NO ou N_2 (RODRIGUES et al., 2017). É o processo de mineralização do N-orgânico do solo é uma das principais vias de perda de nitrogênio do solo via decomposição (PAJARES; BOHANNAN, 2016; BRODLIN et al., 2019).

A velocidade de mineralização pode ser atribuída à labilidade e recalitrância da matéria orgânica do solo florestal (MASUNGA et al., 2016; URUKAWA et al., 2016; SILVA et al., 2017). Então, as características edáficas bióticas como fatores microbiológicos e fauna do solo, e abióticas como temperatura, umidade, disponibilidade de oxigênio e o clima são alguns dos fatores que direcionam o fluxo e velocidade de mineralização do N (YAGI et al., 2009; BRODLIN et al., 2019; ALEIXO et al., 2020). Por isso, as variáveis ambientais como temperatura, umidade e precipitação média podem mostrar correlação entre as taxas de mineralização líquida do nitrogênio e processos de desnitrificação (MORSE et al., 2015a; MORSE et al., 2015b; DURÁN et al., 2016). Pelo fato de que a umidade e sazonalidade influenciam diretamente a mineralização do carbono e do nitrogênio (RODRIGUES et al., 2017). A temperatura, a precipitação e a deposição de material no piso da floresta podem direcionar modelos de mineralização líquida do nitrogênio (CHAPMAN et al., 2013). A respiração do solo e a mineralização do N apresentam fortes padrões sazonais que refletem mudanças na temperatura do solo (FIGUEIREDO et al., 2019; CONTOSTA et al., 2011). Segundo Contosta et al. (2011); Niu et al. (2016) e Nendel et al. (2019) a mineralização e a nitrificação líquida do N pode ser alterada com o aquecimento, umidade do solo e matéria orgânica que modifica a atividade biológica e consequente mineralização e

disponibilidade de NO_3 que pode ser alterada, e interferir nas taxas de crescimento das árvores também.

Pouco se sabe sobre a cinética e potencial de mineralização de N em ecossistemas florestais naturais (WINBOURNE et al., 2018). Ainda são escassos os trabalhos que avaliam a mineralização do N em florestas naturais neotropicais (CARVALHO, 2011; BLUM, 2014; MEDEIROS, 2015; WOICIECHOWSKI, 2015). Mais estudos são necessários de forma a compreender a grande diversidade de formação das florestas existentes nas regiões tropicais e subtropicais, porque as taxas líquidas de mineralização do N são influenciadas pela vegetação Pereira et al. (2011), e o entendimento do fluxo de nitrogênio nos solos e de sua relação com a vegetação, em ambientes florestais, podem gerar conhecimento sobre este importante serviço ecossistêmico das florestas (CARRILLO et al., 2011).

Embora a ciclagem biogeoquímica do N seja bem compreendida, ainda é pouco conhecido o processo de mineralização e disponibilidade do nitrogênio em Espodosolo sob Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas na restinga da planície litorânea do Paraná, e as relações com esta cobertura florestal subtropical.

Desta forma, o objetivo aqui foi avaliar a dinâmica da mineralização do nitrogênio, em Espodosolo sob Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas, no litoral do Paraná.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Localização e caracterização da área de estudo

O estudo foi realizado no Parque Estadual do Palmito, unidade de conservação administrada pela Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Estado do Paraná (SEMA). Esta Unidade de Conservação (UC) está situada sobre a restinga na planície litorânea paranaense no município de Paranaguá, na planície litorânea do Estado do Paraná (Figura 1). A vegetação característica é classificada como Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas (VELOSO et al., 1991). Possui acesso pela Rodovia Eng.º Argus PR 407. Os limites da UC configuram-se ao sul pela PR 407, ao norte pelo canal da Ilha da Cotinga (Baía de Paranaguá), ao leste com o rio dos Almeidas e ao oeste com o rio dos Correias. As coordenadas geográficas são latitude $48^{\circ}31'S$ e longitude $24^{\circ}34'W$, com altitude variável entre 5 e 12 metros em relação ao nível do mar. A vegetação está disposta sobre solos da classe Espodosolo segundo o atual Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 2018).

2.2. Desenho amostral e amostragem

Foram coletadas amostras de solos nas profundidades 0-5 e 5-10 centímetros (cm) devido a profundidade do horizonte orgânico no Espodosolo estudado. As coletas foram realizadas em cinco pontos distintos, ao longo de um transecto de 250 metros, ao final de cada estação climática, entre o outono de 2015 e o verão de 2016. O transecto foi instalado seguindo o protocolo RAPELD do PPBio, onde 25 pontos, a cada 10 metros, foram marcados, obedecendo a curva de nível do terreno. Embora inicialmente tenham sido demarcados 5 pontos de coleta, no total, foram coletadas 4 amostras para ensaio de mineralização nas diferentes profundidades. Isto porque um dos pontos de coleta se situava em parte mais baixa do terreno (com acúmulo de

água), no intercórdão marinho, o que afetou os resultados analíticos de nitrato e amônio.



Figura 1. Mapa de localização geográfica do Parque Estadual do Palmito no litoral do Paraná. Fonte: Google maps/prefeitura de Paranaguá.

Figure 1. Geographic location map of the Palmito State Park on the coast of Paraná state. Source: Google maps/prefeitura de Paranaguá.

2.3. Ensaios de Mineralização

2.3.1. Ensaio anaeróbico de mineralização do N

O ensaio de mineralização anaeróbico do N foi realizado utilizando o método descrito por Waring; Bremner (1964), com coleta e preparo de amostras de solo adaptado.

As amostras de solo coletadas na floresta foram imediatamente transportadas para o laboratório e mantidas em local fresco; e, em um período menor do que 6 horas após coleta, foram tamisadas em peneira de 2 milímetros (mm). Em seguida, foram retiradas duas subamostras: uma subamostra de 10 gramas (g) para determinação da umidade; e outra, com auxílio de um caximbo metálico de 8 centímetros cúbicos (cm³), para o ensaio de mineralização anaeróbica. No Laboratório de Biogeoquímica (LAB) da UFPR, cada subamostra retirada com o caximbo metálico foi colocada em tubo Falcon para centrífuga de 50 mililitros (mL), sendo então adicionados 30 mililitros (mL) de solução extratora de KCl 2 mol L⁻¹. Após 24 horas de contato do solo com a solução extratora, as amostras foram agitadas orbitalmente por 45 minutos e centrifugadas por 10 minutos a uma velocidade de 2000 rotações por minuto (rpm). As amostras centrifugadas foram filtradas em filtro de filtragem rápida, previamente lavados com 20 mililitros (mL) de solução de Cloreto de Potássio (KCl) 2 mol L⁻¹ e em seguida por triplice lavagem com 20 mililitros (mL) de água deionizada, para eliminar resíduos de amônio e nitrato que

eventualmente pudessem contaminar os filtros (Mulvaney, 1996). Essa primeira extração de nitrato (NO₃) e amônio (NH₄) foi denominada de ponto zero (0 dias) e as extrações seguintes, após incubação, foram feitas a cada quinze dias até 75 dias de incubação. Para a incubação, em cada tubo Falcon, foram adicionados 30 mL de solução nutritiva contendo Na₃PO₄ (0,005 mol L⁻¹), MgSO₄ (0,002 mol L⁻¹) e CaCl₂ (0,005 mol L⁻¹). Passados 15 dias de incubação, adicionou-se 5,2 g de Cloreto de Potássio (KCl) (sal anidro) na solução nutritiva dos tubos, de forma a se obter uma solução extratora de KCl 2 mol L⁻¹. Posteriormente, os tubos foram agitados e centrifugados conforme procedimento realizado para o ponto zero. Sempre após a extração, a solução nutritiva foi novamente adicionada em cada tubo, e o processo foi realizado até os 75 dias de incubação, totalizando 6 extrações.

Para determinar amônio, foram feitas leituras no espectrofotômetro ultra violeta visível Shimadzu (UV-VIS) modelo Mini 1240, em comprimento de onda de 640 nm, conforme metodologia da APHA (1995). As amostras foram preparadas diluindo-se 1 mL do extrato em 0,2 mL de solução alcoólica de fenol, 0,2 mL de solução de nitroprussiato sódico, 0,5 mL de solução oxidante, sendo completado o volume de 10 mililitros (mL) com água deionizada. Aguardou-se 1 hora para o desenvolvimento da cor e em seguida as amostras foram submetidas à leitura.

Para determinação do nitrato, foi utilizado método de redução química das amostras (utilizando-se zinco metálico) para leitura por ultravioleta visível (UV-VIS) a 210 nanômetros (nm), (HEINZMANN et al., 1984). Para preparo das amostras, diluiu-se em duplicata 5 mililitros (mL) do extrato em 0,8 mililitros (mL) de H₂SO₄ e completou-se com água deionizada para volume de 10 mililitros (mL). Em uma das amostras adicionou-se 0,1 grama (g) de zinco metálico para redução do nitrato a amônio. Após 24 horas de redução com zinco metálico, foram feitas as leituras das duas amostras: uma com zinco e outra sem zinco, em espectrofotômetro Shimadzu UV Mini 1240 a 210 nanômetros (nm). A diferença dos valores de leitura nas amostras, com e sem zinco metálico, expressa o teor de nitrato na solução extratora.

O cálculo para estimar o nitrogênio potencialmente mineralizável (NPM) foi obtido pela soma dos valores de (Amônio) N-NH₄ e (Nitrato) N-NO₃, de todas as extrações realizadas (aos 0, 15, 30, 45, 60 e 75 dias de incubação).

2.3.2. Ensaio aeróbico de mineralização do N

O ensaio de mineralização aeróbica do N foi realizado no laboratório de Ecologia Terrestre do Centro de Ecologia Funcional (CEF) do Departamento de Ciências da Vida da Universidade de Coimbra em Portugal. Para isso, as amostras de solo, coletadas no Brasil, foram tamisadas em peneira de 2 milímetros (mm) e secas entre 30°C a 40°C por até 76 horas, sendo então embaladas em sacos plásticos e transportadas com licença sanitária internacional para transporte de amostras de solo em processo de exportação de material fitossanitário conforme decreto nº Decreto-Lei nº 154/2005 que dispõe sobre proteção fitossanitária (PORTUGAL, 2005). No laboratório de Ecologia Terrestre, para a determinação do N inorgânico inicial no solo, foram pesados 5 gramas (g) das amostras do material coletado no outono e na primavera, as quais foram transferidas para potes plásticos, sendo acrescentados 30 mililitros (mL) de KCl 1mol L⁻¹. Em seguida, foi realizada agitação por 45 minutos,

sendo o extrato obtido colocado em frascos de 5 mililitros (mL) com diluição de 1:9 (0,5 mL de solução extraída e 4,5 mL de água bidestilada), os quais foram estocados sob refrigeração a 5°C para posterior análise.

Para o ensaio de incubação, foram pesadas alíquotas de 5 gramas (g) das mesmas amostras de solo, das estações outono e primavera, as quais foram umedecidas para atingir uma umidade do solo de 30 % de massa. Os frascos com as amostras foram cobertos com filme plástico poroso de PVC e incubadas por 15 dias em câmara fitoclimática da marca Aralab a 19,8°C e 78,5% de umidade constantes. A temperatura e umidade foram determinadas considerando as médias anuais entre as estações do ano. Após 24 horas de incubação, foram feitas leituras diárias da taxa de respiração, medindo-se o C-CO₂ no período da manhã, com equipamento portátil IRGA (Infra Red Gas Analyzer) EGM 4 pp Systems. Após leitura diária da taxa de respiração, a umidade de cada amostra foi corrigida conforme necessidade. Ao final do período de 15 dias, foi calculado o C-CO₂ acumulado ao longo do período; e as amostras foram submetidas à extração com Cloreto de Potássio (KCl) 1 mol L⁻¹, seguindo o mesmo procedimento de extração descrito anteriormente.

Para análise do nitrato inicial e final de acordo com Rodríguez et al. (2009), foram transferidos, em triplicata, 125 microlitros (µL) de cada amostra ou extrato diluído (9:1) para as microplacas com adição de 25 miligramas (mg) de liga Devarda e 25 microlitros (µL) de H₂SO₄ a 0,1 mol.L⁻¹, sendo, em seguida, as placas seladas e incubadas à temperatura ambiente por 24 horas, para promover a redução do nitrogênio. No dia seguinte, foi transferido 200 microlitros (µL) de cada amostra e solução padrão de nitrato de potássio 0,7 mol.L⁻¹, em triplicata, para novas microplacas, acrescentado-se 125 microlitros (µL) de KCl 1 mol.L⁻¹, 75 µL de Citrato 5% + Salicilato 2% e, por último, 25 µL de hipoclorito de sódio 2% (Figura 2b).

Para análise do amônio utilizou-se a mesma metodologia de Rodríguez et al. (2009), foram pipetados do extrato diluído (1:9), em triplicata, 75 microlitros (µL) de amostra e padrão de cloreto de amônio 0,7 mol.L⁻¹, sendo o líquido transferido para as microplacas, as quais receberam, então, 100 microlitros (µL) de KCl 1 mol/L⁻¹, 75 microlitros (µL) de Citrato 5% + Salicilato 2% e 25 microlitros (µL) de hipoclorito de sódio a 2%. As microplacas foram, posteriormente, cobertas por 45 minutos para reagirem e apresentarem a coloração necessária, e depois submetidas à leitura em leitora de microplacas HEALES MB 580 na faixa de absorvância a 655 nanômetros (nm).

Para obtenção do N inorgânico, tanto inicial como final (obtido após incubação por 15 dias), foram somados os resultados das leituras de N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻. A taxa de nitrificação foi considerada como o nitrato inicial menos o nitrato final, e a taxa de amonificação foi considerada como o amônio inicial menos amônio final.

2.4. Análise estatística

A análise estatística foi feita utilizando teste paramétrico para determinar a variância das taxas líquidas do nitrogênio potencialmente mineralizável do solo nas diferentes estações e nas profundidades 0-5 cm e 5-10 cm, gerados pelo ensaio anaeróbico de mineralização. Para isso foi aplicado o teste de Duncan ($p < 0,10$) com o auxílio do software PAST (Hammer et al., 2001).

3. RESULTADOS

3.1. Ensaio de mineralização anaeróbico do N

No ensaio anaeróbico, a dinâmica de mineralização do N inorgânico, na profundidade 0-5 cm mostrou picos distintos de mineralização conforme a estação do ano. No verão, observou-se um pico máximo de mineralização aos 30 dias no verão, o qual foi superior aos observados na primavera e outono. Nas outras estações os picos máximos foram observados aos 15 dias de incubação. Para estas estações do ano, após os picos máximos acima indicados, observa-se uma diminuição gradual dos valores de N mineralizados até os 75 dias de incubação.

As amostras de inverno mostraram comportamento distinto das demais estações, com decréscimo do N mineralizado de 0 a 30 dias, pequeno pico aos 45 dias e novamente um decréscimo linear até os 75 dias (Figura 2a). Na profundidade de 5-10 cm, para todas as estações do ano, observa-se picos de mineralização do N inorgânico aos 15 dias, com decréscimo gradual até os 75 dias. Mas as amostras do inverno mostraram decréscimo dos 15 aos 30 dias e um aumento pouco acentuado dos 30 aos 75 dias. A maior média foi observado no verão (Figura 2b).

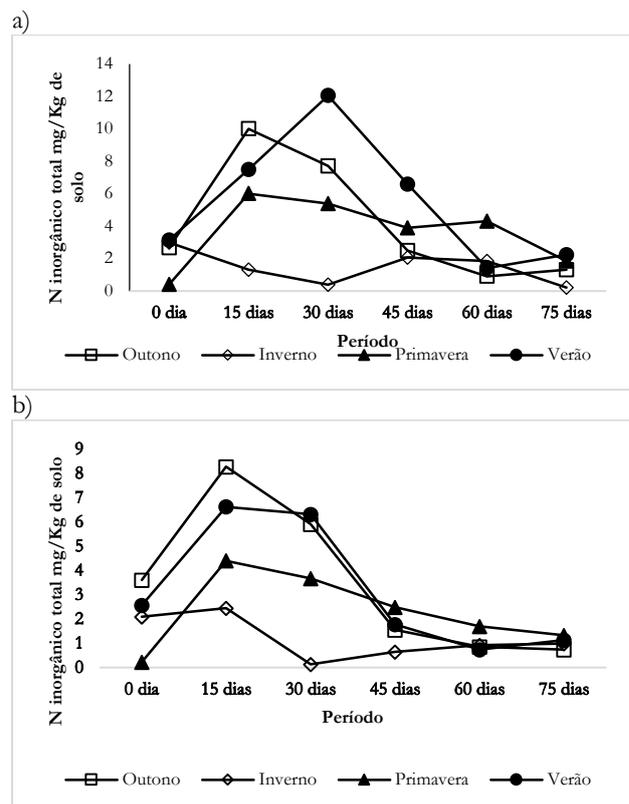


Figura 2. N inorgânico total do solo, ao longo de 75 dias de incubação, nas diferentes estações do ano, nas profundidades a) 0-5 cm e b) 5-10 cm.

Figure 2. Inorganic N in the soil, over 75 days of incubation, at different seasons, at depths a) 0-5 cm and b) 5-10 cm.

O nitrogênio potencialmente mineralizável do solo (Tabela 1) na profundidade 0-5 cm foi significativamente maior no verão e menor no inverno. E observou-se que o valor de nitrogênio potencialmente mineralizável no verão foi quatro vezes maior do que no inverno. E na profundidade 5-10 cm foi maior no outono seguido do verão e a menor no inverno.

Quanto ao nitrogênio mineral acumulado na profundidade de 0-5 cm nas diferentes estações (Figura 3a) observou-se que o maior acúmulo de N foi no verão seguido do outono e os menores acúmulos foram no inverno e primavera. Na profundidade 5-10 cm (Figura 3b) o valor do N mineral acumulado nas diferentes estações do ano o comportamento foi semelhante com maiores valores para o outono e o verão, e os menores valores foram observados no inverno e primavera.

Tabela 1. Nitrogênio potencialmente mineralizável do solo nas diferentes estações nas profundidades 0-5 e 5-10 cm.

Table 1. Potentially mineralizable nitrogen to soil in different seasons at depths 0-5 and 5-10 cm.

Estação	0-5 cm	5-10 cm	Total
mg N kg solo ⁻¹			
Outono	107,3 ab	93,8a	201,1
Inverno	35,9 b	30,1 b	66
Primavera	76,0 ab	50,2 ab	126,2
Verão	129,2 a	81,6a	210,8

Médias seguidas pelas mesmas letras, na vertical, não diferenciam estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,10$).

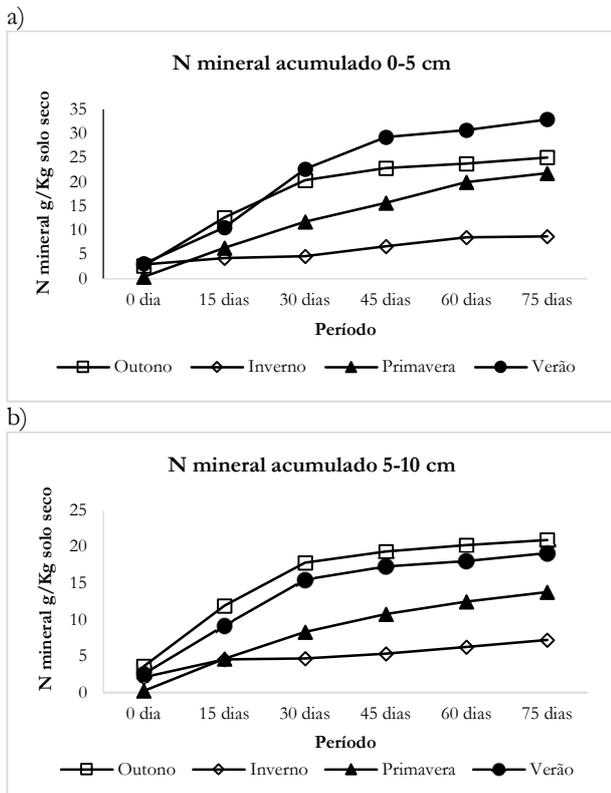


Figura 3. N mineral acumulado ao longo do período de 75 dias nas diferentes estações do ano. a) Profundidade 0-5 cm. b) Profundidade 5-10 cm.

Figure 3. Mineral N accumulated over the period of 75 days in different seasons. a) Depth 0-5 cm. b) Depth 5-10 cm.

3.2. Ensaio de mineralização aeróbica do N

No ensaio aeróbico de mineralização, a taxa de respiração acumulada na profundidade 0-5 cm foi ligeiramente superior no outono em comparação com a primavera e na profundidade 5-10 cm a maior taxa de respiração foi observada no solo coletado na primavera (Figura 4).

Além da maior taxa de nitrificação observada no outono em relação a primavera, nas duas profundidades 0-5 e 5-10

cm (Figura 5), destaca-se a produção nula de nitrato na profundidade 5-10 cm na primavera.

Quanto as taxas de amonificação a maior taxa ocorreu na primavera nas duas profundidades 0-5 e 5-10 cm (Figura 6). Destaca-se a taxa nula de amonificação no outono na camada mais superficial do solo na profundidade 0-5 cm. A amonificação foi maior na primavera nas duas profundidades.

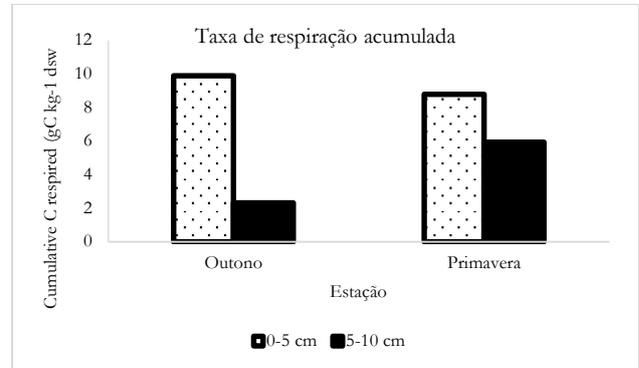


Figura 4. Respiração do solo acumulada ao longo de 15 dias de amostras de Espodossolo coletadas no Outono e na Primavera, nas profundidades 0-5 e 5-10 cm.

Figure 4. Soil respiration accumulated over 15 days of Spodosol samples collected in autumn and spring, at depths 0-5 and 5-10 cm.

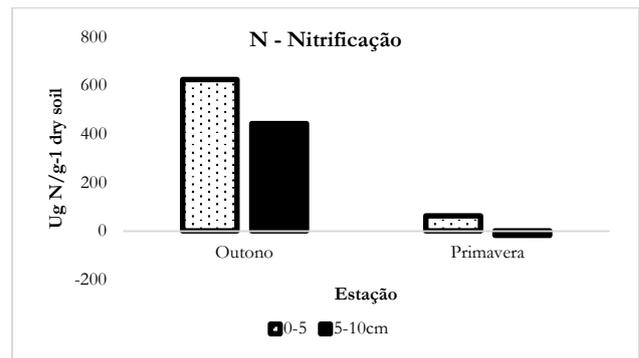


Figura 5. Taxa de nitrificação aeróbica ($\mu\text{gN.g}^{-1}$ de solo seco) de amostras de Espodossolo coletadas no Outono e na Primavera, nas profundidades 0-5 e 5-10 cm.

Figure 5. Aerobic nitrification rate ($\mu\text{gN.g}^{-1}$ of dry soil) of Spodosol samples collected in autumn and spring, at depths 0-5 and 5-10 cm.

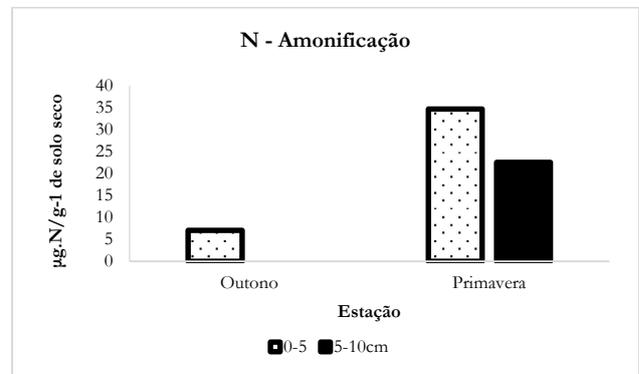


Figura 6. Taxa de amonificação aeróbica ($\mu\text{gN.g}^{-1}$ de solo seco) de amostras de Espodossolo coletadas no outono e na primavera, nas profundidades 0-5 e 5-10 cm.

Figure 6. Aerobic ammonification rate ($\mu\text{gN.g}^{-1}$ of dry soil) of Spodosol samples collected in autumn and spring, at depths 0-5 and 5-10 cm.

4. DISCUSSÃO

Os picos mais elevados de N mineral no início da incubação, no experimento de mineralização, ocorrem devido à disponibilidade da matéria orgânica mais lábil, e a tendência em diminuir a produção pode ser devido a diminuição da disponibilidade deste material persistindo matéria orgânica mais recalcitrante (PULITO, 2009; BLUM, 2014; SILVEIRA, 2015; WINBOURNE et al., 2018).

O N total mineralizado foi maior no verão e menor no inverno (Tabela 1). Este comportamento coincide com aquele observado por (Silveira, 2015) em Floresta Ombrófila Densa, que encontrou o mesmo efeito estacional e pico de produção do N aos 15 dias seguidos de decréscimo de produção. Já (WOICIECHOWSKI, 2015), também em Floresta Ombrófila Densa, não encontrou influência da estação sobre a mineralização do N, mas observou comportamento similar com picos de mineralização entre 15 e 30 dias. As diferenças estacionais aqui observadas, e também por (Silveira 2015), são explicadas por baixa mineralização em períodos de menos chuva e temperaturas um pouco mais baixas, e por valores mais elevados nos períodos mais úmidos e quentes.

Dentre os fatores que podem interferir na mineralização do nitrogênio do solo, a fauna do solo e a qualidade da serapilheira podem controlar o efeito que é dependente do tempo e a macrofauna pode oportunizar a entrada de matéria orgânica mais lábil no solo (CARRILLO et al., 2011; ALMEIDA et al., 2016). Devido ao trabalho dos detritívoros e decompositores de material vegetal que compõe a serapilheira (SANTOS, et al., 2019). A mudança de temperatura do solo, nas diferentes estações do ano, pode representar alteração da respiração edáfica e consequente mineralização do N, onde a maior taxa de respiração pode aumentar a mineralização, refletindo um padrão sazonal (CONTOSTA et al., 2011; PAJARES; BOHANNAN, 2016). Além da temperatura média, que é diferente nas diferentes estações do ano, a precipitação também influencia a mineralização do N devido à relação com a microbiota do solo (PULITO, 2009; BLUM, 2014).

A tendência em aumentar mineralização do N em resposta ao aumento da temperatura do solo tem sido observada em outros estudos CHAPMAN et al., 2013; REICHMANN et al., 2013; QUAN et al., 2015; GIÁCOMO et al., 2015; FIGUEIREDO et al., 2019).

As maiores precipitações no verão fazem com que o Espodosolo sob Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas, que tem o lençol freático raso, apresente afloramento de água nas estações mais chuvosas tornando o ambiente saturado hidricamente. No inverno o lençol não é aflorante e a saturação de água é menor, embora a umidade seja alta o ano todo. Este fato pode justificar as diferentes taxas de mineralização ao longo das estações ano.

A produção e acúmulo do nitrogênio mineralizado ao longo do período de ensaio anaeróbico apresentou comportamento semelhante às taxas de N potencialmente mineralizável onde o verão e outono foram maiores e inverno e primavera tiveram os menores valores. Blum (2014) observou comportamento similar com ensaio comparando diferentes espécies nativas e exóticas na Floresta Ombrófila Mista. Este comportamento reforça a discussão anterior sobre as características edafoclimáticas que interferem na microbiota do solo ditando as taxas de mineralização de N no solo, (SILVEIRA, 2015; WOICIECHOWSKI, 2015).

Quanto a respiração do solo a umidade pode ser um fator determinante para a atividade microbiana (REICHMANN et al., 2013; NIU et al., 2016), mas no caso deste Espodosolo, onde a umidade é alta o ano todo, o fator mais restritivo à atividade microbiológica edáfica parece ser o excesso de água, que pode ocorrer na primavera e verão, quando ocorrem as maiores precipitações pluviométricas (PROTIL, 2007). Nestes períodos de menor oxigenação do solo (primavera), a amonificação foi mais intensamente (Figura 6).

A maior taxa de nitrificação no outono, que é o período mais seco, e maior amonificação na primavera, período mais chuvoso que deixa o solo mais encharcado devido à proximidade do lençol freático com a superfície e afloramento em períodos chuvosos, faz com que os microrganismos sejam favorecidos pelas condições impostas nas diferentes estações do ano (Fuchsluger et al., 2014). Santiago et al. (2013) observaram que a mineralização do nitrogênio foi mais sensível à precipitação pluviométrica sazonal do que a diferença de composição vegetal dos diferentes ecossistemas amazônicos.

A umidade pode estar diretamente relacionada aos microrganismos oxidantes de NH_4 , que oscilam em diferentes condições induzidas pela umidade do solo e também pela temperatura (PULITO, 2009). Schwarzbach (2005) também observou maior produção de N-NO_3 na estação mais seca, ao estudar solução de solo na mesma área com Espodosolo. Neste estudo o provável fator determinante é o maior ou menor encharcamento do solo nas diferentes estações do ano com maior ou menor precipitação. Gonçalves et al. (2001) também observaram maior predominância do amônio em relação ao nitrato ao estudar a mineralização no solo em diferentes coberturas florestais e em diferentes estações do ano. Comportamento semelhante foi encontrado por Barbosa et al (2017), que encontraram, maiores taxas de produção de amônio, em relação ao nitrato em plantio de *Eucalyptus*; e este fato foi atribuído às condições de baixa fertilidade natural, pH ácido do solo e condições físicas, além da população microbiana que favoreceu a amonificação.

Estes resultados indicam que, mesmo após serem secadas, as amostras mantiveram características microbiológicas originárias da época de coleta no campo, as quais se manifestaram após o solo ser umedecido e incubado. E este fato é corroborado com o comportamento distinto entre às duas estações quanto à nitrificação (maior no outono) e à amonificação (maior na primavera) (Figuras 5 e 6).

5. CONCLUSÕES

A mineralização do N no solo mostrou-se influenciada pelas variáveis meteorológicas, principalmente pela umidade do solo. A profundidade do solo teve efeito significativo sobre a mineralização do N, com os maiores valores observados na superfície.

Os ensaios de mineralização anaeróbico e aeróbico mostraram-se complementares e importantes como ferramentas para a identificação do efeito estacional e da profundidade de coleta sobre a mineralização de N no solo.

6. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Instituto Federal do Paraná e ao CNPq edital 05/2019. Ao Centro de Ecologia Funcional da

Universidade de Coimbra em Portugal por todo o apoio à pesquisa. Especialmente aos pesquisadores do Jorge Durán Humia e Alexandra Pereiras Rodríguez.

7. REFERÊNCIAS

- ALEIXO, S.; GAMA-RODRIGUES, A. C.; GAMA-RODRIGUES, E. F.; CAMPELLO, E. F. C.; SILVA, E. C.; SCHRIPSEMA, J. Can soil phosphorus availability in tropical forest systems be increased by nitrogen-fixing leguminous trees?. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 712, p. 136405, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136405>
- ALMEIDA, D. O.; BAYER, C.; ALMEIDA, H. C. Fauna e atributos microbiológicos de um Argissolo sob sistemas de cobertura no Sul do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 9, p. 1140-1147, 2019. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2016000900013>
- APHA, A. E. G.; AWWA, A. D. E.; WEF, L. S. C. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22. ed. Washington: American Public Health Association, 1995. 1504 p.
- BARBOSA, V.; BARRETO-GARCIA, P.; GAMA-RODRIGUES, E.; PAULA, A. Biomassa, carbono e nitrogênio na serapilheira acumulada de florestas plantadas e nativa. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 24, e2015043, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2179-8087.024315>
- BLUM, H. **Caracterização biogeoquímica da serapilheira e de substâncias húmicas do solo sob plantios com espécies florestais nativas e exóticas no sul do Brasil**. 2014. 131f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.
- BRODLIN, D.; KAISER, K.; HAGEDORN, F. Divergent Patterns of carbon, nitrogen, and phosphorus mobilization in forest soils. **Frontiers and Forests and Global Change**, v. 31, n. 2, e66, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/ffgc.2019.00066>
- CARRILLO, Y.; BALL, B. A.; BRADFORD, M. A.; JORDAN, C. F.; MOLINA, M. Soil fauna alter the effects of litter composition on nitrogen cycling in a mineral soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 43, n. 7, p. 1440-1149, 2011. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.03.011>
- CARVALHO, D. **Características da serapilheira e do solo sob florestas de coníferas e folhosas em Rio Negro, PR**. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná Curitiba, 2011.
- CARVALHO, D. C.; PEREIRA, M. G.; GUARESCHI, R. F.; SIMON, C. A.; TOLEDO, L. O.; PICCOLO, M. C. Carbono, Nitrogênio e Abundância Natural de $\delta^{13}C$ do Solo em Coberturas Florestais. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 24, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2179-8087.009315>
- CHAPMAN, L. A. Y.; McNULTY, S. G.; SUN, G.; ZHANG, Y. Net Nitrogen mineralization in natural ecosystems across the conterminous US. **International Journal of Geosciences**, v. 4, p. 1300-1312, 2013.
- CONTOSTA, A. R.; FREY, S. D.; COOPER, A. B. Seasonal dynamics of soil respiration and N mineralization in chronically warmed and fertilized soils. **Ecosphere**, v. 2, n. 3, p. 1-21, 2011. DOI: <https://dx.doi.org/10.1890/ES10-00133.1>
- DURÁN, J. H.; MORSE, J. L.; GROFFMAN, P. M.; CAMPBELL, J. L.; CHRISTENSON, L. M.; DRISCOLL, C. T.; FAHEY, T. J.; FISK, M. C.; LIKENS, G. E.; MELILLO, J. M.; MITCHELL, M. J.; TEMPLER, P. H.; VADEBONCOEUR, M. Climate change decreases nitrogen pools and mineralization rates in northern hardwood forests. **Ecosphere**, v. 7, n. 3, p. 1-13, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1002/ecs2.1251>
- EMBRAPA_ EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5. ed. ed. Brasília: Embrapa, 2018. 356 p.
- FIGUEIREDO, V.; ENRICH-PRAST, A.; RUTTING, T. Evolution of nitrogen cycling in regrowing Amazonian rainforest. **Scientific Reports**, v. 9, n. 8538, 2019. DOI: <https://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-43963-4>
- FUCHSLUEGER, L.; KASTL, E. M.; BAUER, F.; KIENZL, S.; HASIBEDER, R.; LADREITER-KNAUSS, T.; SCHMITT, M.; BAHN, M.; SCHLOTTER, M.; RICHTER, U. Effects of drought on nitrogen turnover and abundances of ammonia-oxidizers in mountain grassland. **Geosciences**, Orléans, v. 11, n. 21, p. 6003–6015, 2014. DOI: <https://dx.doi.org/10.5194/bg-11-6003-2014>
- GARCIA-VELÁZQUEZ, L.; RODRÍGUEZ, A.; GALLARDO, A.; MAESTRE, F. T.; DOS SANTOS, E.; LAFUENTE, A.; FERNANDEZ-ALONSO, M. J.; SINGH, B. K.; WANG, J. T.; DURÁN, J. Climate and soil micro-organisms drive soil phosphorus fractions in coastal dune systems. **Functional Ecology**, Oxford, v. 34, n. 8, p. 1-12, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/1365-2435.13606>
- GIÁCOMO, R. G.; PEREIRA, M. G.; GUARESCHI, R. F.; MACHADO, D. L. Chemical and physical attributes of soil, and carbon and nitrogen stock and humic fractions in different plant formations. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 25, n. 3, p. 617-631, 2015. DOI: <https://dx.doi.org/10.5902/1980509819613>
- GONÇALVES, J. L. M.; MENDES, K. C. F. S.; SASAKI, C. M. Mineralização de nitrogênio em ecossistemas florestais naturais e implantados do estado de SÃO PAULO. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, n. 3, p. 601-616, 2001. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832001000300009>
- HEINZMANN, F. X.; MIYAZAVA, M.; PAVAN, M.A. Determinação de nitrito por espectrofotometria de absorção ultravioleta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 8, p.159-163, 1984.
- MASUNGA, R. H.; UZOKWE, V.; MLAYA, P. D.; ODEH, I.; SINGH, A.; BUCHAN, D.; NEVE, S. Nitrogen mineralization dynamics of different valuable organic amendments commonly used in agriculture. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 101, p. 185-193, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.01.006>
- MOREIRA, M. F. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA. 2006. 729 p.
- MORSE, J. L.; DURÁN, J. H.; GROFFMAN, P. M. Soil Denitrification Fluxes in a Northern Hardwood Forest: The Importance of Snowmelt and Implications for Ecosystem N Budgets. **Ecosystems**, New York, v. 18, p.

- 520-532, 2015a. DOI: <https://dx.doi.org/10.1007/s10021-015-9844-2>
- MORSE, J. L.; DURÁN, J. H.; BEALL, F.; ENANGA, E. M.; CREED, I. F.; FERNANDEZ, I.; GROFFMAN, P. M. Soil denitrification fluxes from three northeastern North American forests across a range of nitrogen deposition. **Oecologia**, v. 177, p. 17-27, 2015b. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00442-014-3117-1>
- MULVANEY, R. L. Nitrogen inorganic forms in: Methods of soil analysis part 3, chemical methods, books series number 5. Madison, USA. **Soil Science Society of America**, n. 5, p. 1123, 1996.
- NENDEL, C.; MELZER, D. THORBURN, P. J. The nitrogen nutrition potential of arable soils. **Scientific Reports**, v. 9, n. 5851, 2019. DOI: <https://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-42274-y>
- NIU, S.; CLASSEN, A. T.; DUKES, J. S.; KARDOL, P.; LIU, L.; LUO, Y.; RUSTAD, L.; SUN, J.; TANG, J.; TEMPLER, P. H.; QUINN, T.; TIAN, D.; VICCA, S.; WANG, Y. P.; XIA, J.; ZAEHLE, S. Global patterns and substrate-based mechanisms of the terrestrial nitrogen cycle. **Ecology Letters**, Oxford, v. 19, n. 6, p. 697-709, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/ele.12591>
- PAJARES, S.; BOHANNAN, B. J. M. Ecology of Nitrogen Fixing, Nitrifying, and Denitrifying Microorganisms in Tropical Forest Soils. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. 1045, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.01045>
- PEREIRA, A. P.; SCHOFFEL, A.; JOEFENDER, J.; CAMERA, J. N.; GOLLE, D. P.; HORN, R. C. Nutrient cycling in summer cover crops. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 4, n. 40, p. 799-807, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.19084/RCA17065>
- PEREIRA, E. L.; SANTOS, S. A. P.; ARROBAS, M.; PATRICIO, M. S. Microbial biomass and N mineralization in mixed plantations of broadleaves and nitrogen-fixing species. **Forest Systems**, v. 20, n. 3, p. 516-524, 2011. DOI: <https://dx.doi.org/10.5424/fs/20112003-11458>
- PORTUGAL. Decreto-Lei nº 154/2005, de 06 de setembro de 2005. Institui medidas de proteção fitossanitária. **Diário da República**, Lisboa, n. 171, 06 set. 2005. Seção I – Série A.
- PULITO, A. P. **Resposta à fertilização nitrogenada e estoque de nitrogênio biodisponível em solos usados para plantações de Eucalyptus**. 2009. 59f. Dissertação de Mestrado (Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2009.
- QUAN, Q.; WANG, C.; HE, N.; ZHANG, Z.; WEN, X.; SU, H.; WANG, Q.; XUE, J. Forest type affects the coupled Relationships of soil C and N mineralization in the temperate forests of northern China. **Nature Scientific Reports**, v. 4, n. 6584, 2015. DOI: <https://dx.doi.org/10.1038/srep06584>
- REICHMANN, L. G.; SALA, O. E.; PETERS, D. P. C. Water controls on nitrogen transformations and stocks in an arid ecosystem. **Ecosphere**, v. 4, n. 1, 2013. DOI: <https://dx.doi.org/10.1890/ES12-00263.1>
- RODRIGUES, R. A. R.; DE MELLO, W. Z.; DA CONCEIÇÃO, M. C. G.; DE SOUZA, P. A.; SILVA, J. J. N. Dinâmica do Nitrogênio em Sistemas Agrícolas e Florestais Tropicais e seu Impacto na Mudança do Clima. **Revista Virtual Química**, v. 9, n. 5, p. 1868-1886, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20170110>
- RODRÍGUEZ, A., DURÁN, J., FERNÁNDEZ-PALACIOS, J.M., GALLARDO, A., Short-term wildfire effects on the spatial pattern and scale of labile organic-N and inorganic-N and P pools. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 257, n. 2, p. 739-746, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2008.10.006>
- SANTIAGO, W. R.; VASCONCELOS, S. S.; KATO, O. R.; BISPO, C. J. C.; RANGEL-VASCONCELOS, L. G. T.; CASTELLANI, D. C. Nitrogênio mineral e microbiano do solo em sistemas agroflorestais com palma de óleo na Amazônia Oriental. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 43, n. 4, p. 395-406, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0044-59672013000400001>
- SANTOS, E.; TOLEDO, V. G.; FERNANDES, H.; PEREIRA, L. A. Macrofauna edáfica invertebrada como bioindicador em dois diferentes fragmentos remanescentes de Floresta Ombrófila Mista no Paraná. **Enciclopedia Biosfera**, Goiânia, v. 16, n. 29, p. 1010-1025, 2019. DOI: http://dx.doi.org/10.18677/EnciBio_2019A82
- SCHWARZBACH, J. **Dinâmica química da solução do solo em três fases sucessionais da floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas no litoral do Paraná**. 2005. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Setor de Florestal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- SILVA, R. J.; BRANCALION, P. H. S.; RODRIGUES, R. R. Forest management impacts on the nitrogen cycling: implications for the rainforests conservation. **Journal of Basic Education, Tecnical and Technological**, v. 1, n.1, p. 240-249, 2017.
- SILVEIRA, F. M. **Ciclagem de nutrientes em estágios sucessionais da Floresta Ombrófila Densa do Paraná**. 2015. 144f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Programa de Pós Graduação em Engenharia Florestal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.
- URAKAWA, R.; OHTE, N.; SHIBATA, H.; ISOBE, K.; TATENO, R.; ODA, T.; HISHI, T.; FUKUSHIMA, K.; INAGAKI, Y.; HIRAI, K.; OYANAGI, N.; NAKATA, M.; TODA, H.; KENTA, T.; KUROIWA, M.; WATANABE, T.; FUKUZAWA, K.; TOKUCHI, N.; UGAWA, S.; ENOKI, T.; NAKANISHI, A.; SAIGUASA, N.; YAMAO, Y.; KOTANI, A. Factors contributing to soil nitrogen mineralization and nitrification rates of forest soils in the Japanese archipelago. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 361, p. 382-396, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2015.11.033>
- VELOSO, H. P.; RANGEL FILHO, A. L. R.; LIMA, J. C. A. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro: IBGE - Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, 1991. 124 p.
- WARING, S. A.; BREMNER, J. M. Ammonium production in soil under waterlogged conditions as an index of nitrogen availability. **Nature**, London, v. 201, p. 951-952 1964.
- WINBOURNE, J. B.; FENG, A.; REYNOLDS, L.; PIOTTO, D.; HASTINGS, M. G.; PORDER, S.

Nitrogen cycling during secondary succession in Atlantic Forest of Bahia, Brazil. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1377. 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-19403-0>

WOICIECHOWSKI, T. **Ciclagem de fitomassa e nutrientes na Floresta Ombrófila Densa Submontana no litoral do Paraná**. 2015. 133f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

YAGI, R.; FERREIRA, M. E.; PESSÔA, M. C.; BARBOSA, J. C. Renato. mineralização potencial e líquida de nitrogênio em solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 2, p. 385-394, 2009. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832009000200016>