

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Eficiência agronômica da adubação nitrogenada associada à  
aplicação de substâncias húmicas em cana-de-açúcar**

**José Marcos Leite**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor  
em Ciências. Área de concentração: Solos e  
Nutrição de Plantas

**Piracicaba  
2016**

José Marcos Leite  
Engenheiro Agrônomo

**Eficiência agronômica da adubação nitrogenada associada à aplicação de  
substâncias húmicas em cana-de-açúcar**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:  
Prof. Dr. **PAULO CESAR OCHEUZE TRIVELIN**

Tese apresentada para obtenção do título de  
Doutor em Ciências. Área de concentração: Solos  
e Nutrição de Plantas

**Piracicaba  
2016**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Leite, José Marcos

Eficiência agrônômica da adubação nitrogenada associada à aplicação de substâncias húmicas em cana-de-açúcar / José Marcos Leite. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.

130 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

1. Ácidos húmicos 2. Ureia 3. Eficiência do uso de nitrogênio 4. Isótopo <sup>15</sup>N 5. Absorção de nutrientes I. Título

CDD 633.61  
L533e

**"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"**



*Aos meus pais,*

*Manoel Pedro Leite e Idalina Carmen Oliveira Leite, pelo caráter, ensinamento, honestidade, amor e exemplo de vida.*

*Aos meus queridos irmãos,*

*Antônio Sérgio Leite e Agostinho Junio Leite pelo companheirismo, amizade, força de vontade e confiança.*

*À minha linda irmãzinha,*

*Aline Carmen Leite por ser um presente de Deus em nossas vidas.*

**DEDIÇÃO**

*À minha noiva Carina de Fátima Nascimento, pelo seu companheirismo, apoio, dedicação e total incentivo. Pelo seu eterno amor e gratidão nesta jornada.*

**OFEREÇO**



## Agradecimentos

Ao professor e orientador Dr. Paulo Cesar Ocheuze Trivelin, pelos ensinamentos, orientação exemplar, dedicação total e por estar sempre presente e de fácil acesso. Agradeço por todo o conhecimento compartilhado em todo este tempo.

Ao professor Ignacio A. Ciampitti, da Universidade Estadual do Kansas, exemplo de trabalho e dedicação, agradeço por ter me recebido e por todo o apoio durante o período de doutorado "sanduíche". Este estágio foi um marco importantíssimo em minha carreira profissional.

À FAPESP pela concessão da bolsa de doutorado (Processo 2011/21532-5); à CAPES pela bolsa de doutorado sanduíche (Processo 7407/2014-09).

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ e a Embrapa Agrobiologia pela sólida formação acadêmica durante a graduação.

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"- ESALQ/USP, à coordenação do Programa de Pós Graduação em Solos e Nutrição de Plantas pela oportunidade concedida durante o mestrado e doutorado.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura- CENA/USP, em especial ao Laboratório de Isótopos Estáveis-LIE, pelo apoio e estrutura disponibilizada durante todo este tempo.

À fazenda do grupo Agro-Pastoril Campanelli por disponibilizar área para as pesquisas de campo, apoio na instalação e condução dos experimentos. Em especial ao Victor Campanelli e ao Ricardo Campanelli (Naná) por toda a dedicação, apoio e infraestrutura disponibilizada. Agradeço também toda a equipe de campo, sem a qual nada disto seria possível.

À empresa Agrolatino pelo apoio financeiro e disponibilidade de produto, especialmente ao Guto e Gean por acreditar em nosso trabalho e nos apoiar

sempre que possível. Agradeço também ao Albson pela dedicação e apoio na condução de todos os experimentos.

Aos amigos: Guilherme de Souza Hipólito, Juliano Toledo Saib Marcelino, Aijânio Gomes Brito Silva, Guilherme de Castro Franco e Willian Pereira, pela amizade, convivência, alegria e apoio no dia a dia, preenchendo o espaço vazio deixado pela solidão de morar longe da família.

Aos colegas de Pós-Graduação, pelo apoio e convívio: Hugo Abelardo, Evandro Schoninger, Michele X. Vieira, Eduardo Mariano, Oriel T. Kölln, Beatriz Nastaro e Paulo Lazzarini. Aos estagiários: Carol, Jussara, Lucas e Luiz, meu muito obrigado pelo apoio na condução deste trabalho.

A toda equipe do Laboratório Isótopo Estável-CENA/USP: Professores José Albertino Bendassoli, Helder de Oliveira, Jefferson Mortatti; a secretária Magda; aos funcionários: Bento Moçambique, Clélber Vieira, Ana, Glauco e Juliana pela excelência do serviço realizado. Em especial ao Hugo Batagello e Paulo Lazzarini (Pitomba) pela disponibilidade, amizade e apoio nos experimentos de campo.

A toda a equipe do "Crop Production Lab" da Kansas State University: Guillermo Balboa, Ana Júlia, Bailey, Jonathan, Camille, Pedro, Carlos, Gabriela, Osler, Nicholas, Pavithra e John pelo auxílio nas análises e condução do experimento. Agradeço ainda o apoio do Alexandre Rosa, meu muito obrigado por tudo.

Aos meus familiares, primos, primas, tios e tias e minha avó Afonsina pela alegria, simplicidade, ensinamentos e carinho. Em especial minha noiva Carina de Fátima Nascimento, por sempre acreditar e me apoiar em todos os momentos.

Enfim, agradeço a todos que, de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

**MUITO OBRIGADO!!!**



*"A agricultura é a maior invenção da humanidade, invenção esta que ainda não está terminada."*

*NORMAN BOURLAG, NOBEL (1970)*

*Engenheiro agrônomo*

*"Nossa maior fraqueza está em desistir. O caminho mais certo de vencer é tentar mais uma vez"*

*Thomas Edison*



## SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT .....	13
1 INTRODUÇÃO .....	15
Referências .....	20
2 CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E MISTURAS COM UREIA: EFEITO TAMPÃO, HIDRÓLISE E VOLATILIZAÇÃO DE NH <sub>3</sub> .....	27
Resumo .....	27
Abstract .....	27
2.1 Introdução .....	28
2.2 Material e Métodos.....	30
2.2.1 Processo de extração das SH e AH .....	30
2.2.2 Caracterização .....	31
2.2.3 Determinação do poder tampão .....	33
2.2.4 Mistura de SH de turfa e leonardita em doses crescentes de ureia .....	34
2.2.5 Avaliação da volatilização de NH <sub>3</sub> proveniente da aplicação de ureia com SH e inibidor de urease .....	35
2.3 Resultados .....	36
2.3.1 Poder tampão.....	36
2.3.2 Hidrólise de ureia em misturas com SH .....	38
2.3.4 Volatilização de NH <sub>3</sub> .....	41
2.4 Conclusão .....	45
Referências .....	45
3 PRODUTIVIDADE E PARÂMETROS TECNOLÓGICOS DE CANA-DE-AÇÚCAR ADUBADAS COM SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E/OU UREIA .....	49
Resumo .....	49
Abstract .....	49
3.1 Introdução .....	50
3.2 Material e Métodos.....	52
3.2.1 Áreas experimentais.....	52
3.2.2 Delineamento experimental e misturas de fertilizantes .....	53
3.2.3 Avaliações .....	56
3.2.4 Análises estatísticas.....	58
3.3 Resultados e discussão.....	58
3.3 Conclusão .....	68
Referências .....	68
4 AUMENTO DA EFICIÊNCIA DO USO DE N EM CANA-DE-AÇÚCAR COM SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E UREIA.....	73
Resumo .....	73
Abstract .....	73
4.1 Introdução .....	74
4.2 Material e Métodos.....	76
4.2.1 Experimento 1 .....	76
4.2.2 Experimento 2 .....	76
4.2.3 Preparo dos fertilizantes.....	77
4.2.4 Delineamento experimental e aplicação dos fertilizantes .....	78
4.2.5 Avaliações .....	79
4.3 Resultados e discussão.....	81
4.4 Conclusão .....	91

Referências.....	91
5 ACÚMULO E PARTICIONAMENTO DE NUTRIENTES EM SOQUEIRAS DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	96
Resumo .....	96
Abstract.....	96
5.1 Introdução.....	97
5.2 Material e Métodos .....	99
5.2.1 Áreas experimentais .....	99
5.2.2 Avaliação de biomassa e acúmulo de nutrientes .....	101
5.2.3 Biomassa e particionamento de nutrientes .....	102
5.2.4 Análises estatísticas .....	104
5.3 Resultados e discussão .....	104
5.3.1 Condições climáticas .....	104
5.3.2 Produtividade de colmo e acúmulo de nutrientes .....	104
5.3.3 Biomassa e particionamento de nutrientes .....	107
5.3.4 Relação entre rendimento de colmos e acúmulo de nutrientes .....	109
5.3.5 Estequiometria de N:P e N:K nos componentes da cana-de-açúcar .....	112
5.4 Conclusão .....	116
Referências.....	116
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	124
ANEXOS.....	126
Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .....	127
Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) .....	129

## RESUMO

### Eficiência agrônômica da adubação nitrogenada associada à aplicação de substâncias húmicas em cana-de-açúcar

A aplicação de substâncias húmicas (SH) em misturas com ureia pode aumentar a eficiência do uso de N (EUN) em soqueiras e também melhorar a produtividade de cana-de-açúcar por favorecer a atividade de proteínas relacionadas ao processo de absorção de nutrientes. Neste sentido, experimentos de laboratório, casa-de-vegetação e de campo foram desenvolvidos com os seguintes objetivos: (i) Avaliar e caracterizar SH extraídas de turfa em misturas com soluções de N-ureia, quantificando teores de N-mineral e a volatilização de  $\text{NH}_3$ . (ii) Quantificar a produtividade de colmos e atributos tecnológicos da cana-de-açúcar adubados com doses de SH, doses de ureia e misturas de doses ureia+SH em experimentos de campo. (iii) Estudar a eficiência de recuperação do  $^{15}\text{N}$ -ureia em misturas com SH e ácidos húmicos (AH) aplicados às folhas de cana-de-açúcar. (iv) Estimar a biomassa, acúmulo de nutrientes (N, P, K), particionamento (folhas secas, colmo e ponteiros) e a relação (N:P, N:K) destes nutrientes nas soqueiras de cana-de-açúcar com diferentes níveis de produtividade. Em experimento de laboratório, após a extração, purificação e caracterização das SH, foram preparadas as misturas com doses crescentes de ureia. Constatou-se a hidrólise de parte do N-amídico, transformando-o em  $\text{N-NH}_4^+$  e que a concentração de ureia nas misturas pode interferir na hidrólise da mesma. A mistura da solução de ureia com SH (15% de N), com o pH corrigido (pH=7), possibilitou a redução nas perdas de  $\text{NH}_3$  por volatilização do solo. Em estudos de campo, com doses de N-ureia (0, 25, 50, 75 e 100  $\text{kg ha}^{-1}$ ), doses de SH (0, 100, 200, 300 e 400  $\text{L ha}^{-1}$ ) e mistura destas doses: ureia+SH, verificou-se que em três áreas estudadas, duas houve resposta aos fertilizantes nitrogenados ureia e misturas ureia+SH. Em geral, as doses de ureia+SH promoveram aumento significativo de 6% de rendimento de colmos (TCH) e incremento de 4,5% da produção de açúcar ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) comparando somente com a aplicação de doses de ureia. Em dois experimentos de casa-de-vegetação foram realizadas aplicações às folhas de cana-de-açúcar de ureia, ureia+AH e ureia+SH. Na média dos dois experimentos, a recuperação de  $^{15}\text{N}$  (EUN) foi maior para a ureia + SH (49%) em comparação com ureia + AH (43%) e apenas ureia (37%). A fertilização foliar com ureia + SH aumentou o valor total de proteína (7, 24, 17 e 93%) quando comparado com aplicação somente de ureia após 96, 192, 360 e 720 horas da aplicação foliar, respectivamente. O particionamento dos nutrientes (N, P e K) nos órgãos da cana-de-açúcar (folha seca, ponteiros e colmos) indicam que maiores produtividades de colmo foram obtidas com elevados acúmulos desses nutrientes no ponteiro e maior equilíbrio da relação de N:P (6:1) e N:K (0,5:1). A mistura de ureia com SH é uma estratégia viável que promove aumento de rendimento de colmos, maior produção de açúcar e ainda aumento da EUN. No entanto, para sistemas com altas produtividades é necessário observar a relação e o equilíbrio dos nutrientes principalmente nos componentes com alta atividade fotossintética (ponteiros de cana-de-açúcar).

Palavras-chave: Ácidos Húmicos, Ureia, Eficiência do Uso de Nitrogênio, Isótopo  $^{15}\text{N}$ , absorção de nutrientes.



## ABSTRACT

### **Agronomic efficiency of nitrogen fertilization associated with humic substances application in sugarcane**

Humic substances (HS) in mixture with urea can improve N use efficiency (NUE) and sugarcane yield when applied in ratoon. In this regard, lab experiments, greenhouse and field studies have been developed with the following goals: (i) Evaluate and characterize HS extracted from peat in mixtures with urea solutions, quantifying N-mineral content and NH<sub>3</sub> volatilization. (ii) Quantify sugarcane yield and technological attributes of sugarcane ratoon fertilized with HS rates, urea rates and mixtures of the fertilizers: HS+urea on field experiments. (iii) Evaluate the recovery efficiency of <sup>15</sup>N-urea mixture with HS and humic acid (HA) applied on sugarcane leaf. (iv) To estimate the biomass, nutrient uptake (N, P, K), partitioning (dry leaves, stem and tops) and the ratio (N:P,N:K) of these nutrients in the sugarcane ratoon with different levels of productivity. In the lab, after extraction, purification and characterization of HS, mixtures with rates of urea were performed. It was observed that this mixture was promoted by urea hydrolysis transforming into N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and concentration of N-urea may interfere in the hydrolysis. The experiment to evaluate the volatilization was observed that the mixture of HS and urea solution with a fixed pH (pH = 7) led to the reduction in losses by volatilization of NH<sub>3</sub>. In field studies, N-urea rates (0, 25, 50, 75 and 100 kg ha<sup>-1</sup>), HS rates (0, 100, 200, 300 and 400 L ha<sup>-1</sup>) and mixing these doses: urea + HS. In two of the three studies there were response to the urea nitrogen fertilizers, urea and mixtures HS+urea. In general, urea doses + HS promoted significant increase of 6% yield of stalks (TCH) and 4.5% increase in sugar production (Mg ha<sup>-1</sup>) compared only with the application of urea. In greenhouse experiments applications were performed via foliar urea, urea+HA and urea+HS. The average of the two experiments, the recovery of <sup>15</sup>N (NUE) was added to the HS + urea (49%) compared with HA+urea (43%) and only urea (37%). The foliar application of urea+HS increased the total protein value (7, 24, 17 and 93%) compared with the application of urea for only 96, 192, 360 and 720 hours following fertilizer application, respectively. In addition, there was a nutrient partitioning study (N, P and K) in the components of sugarcane (dry leaf, tops and stems). It was observed for nutrient partitioning process that dry leaves had lower nutrient content (N, P, and K) and broader N:P/N:K ratios when compared with tops and stalks. Greater sugarcane yield and narrowed N:P ratio (6:1) were documented for tops of sugarcane when increasing both N and P content. However, for high systems yields it is necessary check the ratio and balance of nutrients in the components with high photosynthetic activity (tops of sugarcane).

Keywords: Humic Acid, Urea, Nitrogen Use Efficiency, <sup>15</sup>N Isotope, Nutrients Uptake.





## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil responde por um terço da produção mundial de cana-de-açúcar, sendo considerado o maior produtor com 9,1 milhões de hectares na safra de 2014/2015 e uma produtividade média de 71 Mg ha<sup>-1</sup> de colmos, de acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB. A produção anual brasileira situa-se em torno de 634 milhões de toneladas de colmos cana-de-açúcar, sendo produzido cerca de 35 milhões de toneladas de açúcar e 28,8 bilhões de litros de etanol, que corresponde, respectivamente, a 43% e 57% do mix da produção total de cana-de-açúcar. O Estado de São Paulo deve contribuir com 52% da produção canavieira nacional, com área total da cultura cerca de 4,6 milhões de hectares (CONAB, 2015). Por meio destes números é notável a importância da cana-de-açúcar para o agronegócio brasileiro e em especial para o estado de São Paulo.

A cana-de-açúcar é uma cultura promissora, pois além de produzir etanol e açúcar, pode ser fonte de biomassa para a cogeração de energia elétrica em complemento à eletricidade produzida por hidrelétricas (NOVACANA, 2015). O etanol originado da cana-de-açúcar se destaca como um combustível renovável e contribui significativamente para a redução das emissões atmosféricas de gases do efeito estufa (GEE) (GOLDEMBERG et al., 2008). Essa redução dos GEE ocorre devido ao sequestro de carbono principalmente quando a cana-de-açúcar é colhida mecanicamente e sem despalha à fogo (GRAHAM et al., 2002; MACEDO; SEABRA; SILVA, 2008; SILVA-OLAYA et al., 2013).

Estima-se que a palhada depositada sobre o solo com a colheita mecanizada, sem queima, pode variar entre 10 a 20 Mg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de material seco. Esta cobertura vegetal corresponde à adição de 40 a 80 kg ha<sup>-1</sup> de N com uma alta relação C:N em torno de 100:1 (TRIVELIN et al., 2013; VITTI et al., 2007). A palha depositada sobre o solo proporciona diversos benefícios: aumenta o teor de carbono (GALDOS et al., 2009), aumenta os teores de nutrientes no solo, e conseqüentemente, interfere na reciclagem dos mesmos (FORTES et al., 2011; TRIVELIN et al., 2013; FRANCO et al., 2013). Além disso, o material vegetal recoberto o solo aumenta a infiltração de água, diminui a erosão e a evaporação edáfica, melhora a estrutura física do solo, e também reduz a variabilidade espacial da temperatura e umidade do solo (DOURADO-NETO et al., 1999; CARDOSO et al., 2013). Contribui, ainda, para a melhoria da densidade do solo, estabilidade de

agregados e aumenta a infiltração da água no solo (CEDDIA et al., 1999; GRAHAM et al., 2002).

O sistema de colheita sem despalha à fogo tem diversos benefícios, porém é um entrave para o manejo de fertilizantes, principalmente para a fertilização nitrogenada (MARIANO et al., 2012; TRIVELIN et al., 2013). Diversos autores têm estudado o efeito da dinâmica do N no solo envolvendo a palhada de cana-de-açúcar (OLIVEIRA et al., 1999; BASANTA et al., 2003; VITTI et al., 2007; TRIVELIN et al., 2013). De acordo com Cantarella (2007) restos culturais com relação C:N acima de 30 causam a imobilização microbiana do N. Neste sentido, a imobilização do N torna-se prejudicial ao desenvolvimento da cana-de-açúcar, inclusive no estágio inicial de crescimento e perfilhamento da cultura, em que esta apresenta maior demanda pelo nutriente (VITTI et al., 2007; FRANCO et al., 2011). Altas relações C/N, C/P e C/S, respectivamente de 97, 947 e 695 na palha recém-colhida e de 68, 552 e 455 na palha remanescente, evidenciam que o N não estará disponível para a cultura no período considerado (OLIVEIRA et al., 1999).

O N representa em média 1% da matéria seca total da cana-de-açúcar, mas está envolvido diretamente na síntese de aminoácidos essenciais, de clorofila e na produção de carboidratos, fotossíntese e proteínas (MALAVOLTA et al., 1997; EPSTEIN; BLOOM, 2006). O N é considerado o segundo nutriente mais extraído pela cana-de-açúcar e o mais limitante para o crescimento, perfilhamento e desenvolvimento da cultura, além de representar um custo significativo na produção de canaviais (TRIVELIN, 2000); sendo, ainda, o nutriente que mais influencia positivamente na produtividade, além de ser primordial em todos os processos metabólicos primários e secundários da planta (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

A cultura da cana-de-açúcar exporta aproximadamente 0,7 a 1,1 kg de nitrogênio por tonelada de colmo produzido (OLIVEIRA et al., 2010). Kondörfer et al. (1992) estimaram a extração média de quatro variedades em 1,4 kg de N por tonelada de colmo, contabilizando o conteúdo do nutriente em toda a parte aérea, valores esses próximos aos obtidos por Trivelin et al. (2002a), que calcularam a exigência em N de 1,6 a 1,7 kg por tonelada de colmo. Porém, considerando-se toda a planta (parte aérea + subterrânea), esses valores variaram de 2,1 a 2,4 kg de N por tonelada de colmo produzido. Esses dados indicam que para uma produção de 100 t ha<sup>-1</sup> de colmos, a cana-de-açúcar extrai em torno de 120 a 250 kg ha<sup>-1</sup> de N,

dos quais 70 a 100 kg ha<sup>-1</sup> são exportados com os colmos removidos do campo (OLIVEIRA et al., 2010).

As principais fontes de N para o desenvolvimento da cana-de-açúcar são: a mineralização do N da palhada remanescente e da matéria orgânica do solo (TRIVELIN et al., 2002a, 2013), a reserva de N do colmo da cana-de-açúcar no plantio (CARNEIRO et al., 1995), a fixação biológica de N por microrganismos associada a cultura (BODDEY et al., 2003) e o N fertilizante fornecido por diversas fontes minerais (VITTI et al., 2007; FRANCO et al., 2011). Porém alguns estudos apontam que a maior contribuição de N para a cana-de-açúcar tem como origem a mineralização do N do solo (BASANTA et al., 2003; MARIANO et al., 2015).

Para a manutenção de produtividades elevadas é essencial a adição de adubos nitrogenados para complementar a exigência nutricional da cultura e manter o nível adequado de N no solo (FRANCO et al., 2011; TRIVELIN et al., 2013). Atualmente, o Brasil é dependente da importação de fertilizantes, sendo que em 2014 mais de 75% do fertilizante nitrogenado consumido no país foi importado (AGÊNCIA NACIONAL DE DIFUSÃO DE ADUBOS-ANDA, 2015). O fertilizante nitrogenado mais usado é a ureia, devido as suas vantagens comparativas em termos de custos, disponibilidade, alto percentual de N e custo final para o agricultor (CANTARELLA, 2007; WITTE, 2011). Porém, como relatado por diversos autores: Trivelin et al. (2002b), Costa et al. (2003), Cantarella (2007), Chien, Prochnow e Cantarella (2009) e Mariano et al. (2012), o uso da ureia em cobertura sobre a palhada pode resultar em elevadas perdas de N por volatilização de NH<sub>3</sub>, quando aplicada sem incorporação. Em cana-de-açúcar, Cantarella et al. (2008) indicaram que as perdas variaram de 16 a 44 % do N aplicado, podendo chegar em outras culturas à 78% do N aplicado sendo volatilizado na forma de NH<sub>3</sub> (CANTARELLA, 2007). O processo de volatilização envolve, inicialmente, a hidrólise da fonte amídica por ação da urease que é uma enzima extracelular produzida por bactérias, actinomicetos e fungos do solo ou, ainda, originada de restos vegetais. Sabe-se que a atividade de urease é maior em plantas e resíduos vegetal comparados ao solo. Barreto e Westerman (1989) observaram que a atividade de urease em resíduos de culturas era cerca de 30 vezes maior do que em cultivo tradicional. Portanto, solos com restos de cultura como, por exemplo, a palhada de cana-de-açúcar depositada sobre o solo, tende a ter maior atividade de urease e maiores perdas de NH<sub>3</sub> do que solos descobertos (CANTARELLA, 2007). Além desta camada de resíduos

dificultarem a incorporação do N-fertilizante ao solo pode potencializar as perdas de  $\text{NH}_3$  (MARIANO et al., 2012).

Diversos estudos têm relatado baixa recuperação do N na cana-de-açúcar derivado dos fertilizantes, entre 5 a 40% do N aplicado (BASANTA et al., 2003; TRIVELIN, 2000; VITTI et al., 2007; FRANCO et al., 2011; VIEIRA-MEGDA et al., 2015). Esses valores relativamente baixos foram obtidos com a técnica do traçador isotópico  $^{15}\text{N}$  para mensurar a absorção do N-fertilizante pela planta. No entanto, Franco et al. (2011) observaram que durante o desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar o N derivado do fertilizante é a principal fonte do nutriente para a planta. Em alguns casos, nos estágios iniciais de desenvolvimento chega a representar mais de 70% de todo o N da parte aérea (FRANCO et al., 2011). Entretanto, na colheita da cana-de-açúcar, a participação do N fertilizante no N total da planta se reduz significativamente e em muitos estudos não apresenta resposta à adubação com as doses de N (OTTO et al., 2013; VIEIRA-MEGDA et al., 2015).

Diante dos fatos apresentados, é evidente a necessidade do aumento da eficiência de uso do nitrogênio (EUN) pela cana-de-açúcar, em especial de soqueiras da cultura que normalmente ocupam mais de 80% dos canaviais brasileiros. Principalmente, ao considerar que este nutriente está suscetível a perdas por volatilização do sistema ou mesmo pela imobilização temporária pelos microrganismos do solo (FAGERIA; BALIGAR, 2005; WITTE, 2011; MARIANO et al., 2012). Uma alternativa para aumentar a eficiência da adubação nitrogenada está na mistura com substâncias húmicas (SH), sendo que um dos efeitos se relaciona à dinâmica do N amoniacal no solo (DONG et al., 2009). As SH têm um papel na regulação da disponibilidade de  $\text{N-NH}_3$ , devido à sua propriedade de adsorção (MACKOWIAK et al., 2001). Além disso, as SH podem manter N em sua estrutura, seja diretamente por meio de reações químicas ou indiretamente por meio de atividades microbiana, e posteriormente pela decomposição da biomassa microbiana (DONG et al., 2009). Thorn e Mikita (1992) detectaram que um solo incubado em laboratório incorporou o  $^{15}\text{N-NH}_3$  e aumentou o teor médio de N de 0,88 para 3,17%, devido às propriedades da matéria orgânica do solo mais estabilizada que se encontram em SH.

Além dos efeitos diretos na ciclagem do N no solo, existem evidências de que as SH podem estimular a absorção de nutrientes pelas bombas de  $\text{H}^+$  e aumentar a atividade da  $\text{H}^+$ -ATPases nas raízes dos vegetais (NARDI et al., 2002; CANELLAS et

al., 2002; QUAGGIOTTI et al., 2004; ROSE et al., 2014). Substâncias húmicas podem ainda apresentar atividade auxínica e estimular o crescimento do sistema radicular (CANELLAS et al., 2006; MUSCOLO et al., 2013; LAZZARINI, 2014). Canellas e Façanha (2004) observaram forte estímulo no transporte de prótons através de vesículas enriquecidas de membranas plasmáticas, isoladas de raízes de milho, por SH. Foram também observados que o estímulo no transporte de  $H^+$  e no crescimento de raízes de plântulas de milho foi maior para o ácido húmico (AH) em relação ao ácido fúlvico (AF) (CANELLAS et al., 2006, 2010). Canellas e Façanha (2004) observaram que o incremento da produção de matéria seca do sistema radicular foi promovido por AH. A aplicação de AH promove ação sobre a  $H^+$ -ATPases de membrana plasmática e absorção de nutrientes (CANELLAS et al., 2006, 2012; ZANDONADI et al., 2007; ÇELIK et al., 2011). A principal via para o transporte desse nutriente é um processo ativo que envolve o co-transporte com íons  $H^+$  (FERNANDES; SOUZA, 2006; CANELLAS et al., 2012). Sabe-se, também, que altas taxas de absorção de nitrato, frequentemente, ocorrem paralelamente à elevação dos níveis de expressão da  $H^+$ -ATPases na membrana plasmática e de sua atividade (QUAGGIOTTI et al., 2004; FERNANDES; SOUZA, 2006). Desta maneira, a combinação de SH com o N fertilizante pode ser uma estratégia para aumentar a absorção deste nutriente pela cana-de-açúcar e, conseqüentemente, aumentar a EUN.

Nas últimas décadas, a utilização de isótopos estáveis vem se destacando em várias áreas de pesquisa. A utilização do  $^{15}N$  como traçador propicia um melhor entendimento do ciclo do nitrogênio no sistema solo-planta (TRIVELIN, 2000). O uso do traçador  $^{15}N$  possibilita avaliar com exatidão a eficiência de recuperação do  $^{15}N$ -fertilizante pela planta. Dessa forma, o emprego dessa poderosa ferramenta pode ser muito útil para avaliar EUN em mistura com SH, uma vez que a cana-de-açúcar apresenta baixa recuperação do N fertilizante e a mistura das SH com N-fertilizante pode ser uma alternativa para se aumentar a eficiência de uso do N pela cultura.

Diante do estado da arte apresentado, foram levantadas as seguintes questões:

- (i) Pode a mistura de SH com ureia alterar a hidrólise desse fertilizante e conseqüentemente reduzir a volatilização de  $NH_3$  quando aplicada sobre a palha de cana-de-açúcar?

- (ii) A aplicação de SH contendo ureia pode aumentar a produtividade de colmos e atributos tecnológicos de soqueiras de cana-de-açúcar?
- (iii) As SH podem aumentar a EUN em cana-de-açúcar, quando aplicadas via foliar em mistura com soluções de ureia?
- (iv) O acúmulo, o balanço de N:P e N:K e o particionamento destes nutrientes na cana-de-açúcar podem limitar o aumento de produtividade e a EUN?

De acordo com as questões apresentadas que se constituem nas hipóteses desta tese, e considerando-se que o manejo da adubação nitrogenada deve ser realizado no sentido de aumentar a EUN, os principais objetivos deste trabalho foram:

- a) Avaliar e caracterizar SH extraídas de turfa em misturas com soluções de N-ureia, teores de N-mineral e a volatilização de  $\text{NH}_3$ .
- b) Quantificar a produtividade de colmos e atributos tecnológicos da cana-de-açúcar adubados com doses de SH, doses de ureia e misturas de doses ureia+SH.
- c) Estudar a eficiência de recuperação do  $^{15}\text{N}$ -ureia em misturas com SH e AH purificados aplicados via folha de cana-de-açúcar.
- d) Estimar a biomassa, acúmulo de nutrientes (N, P, K), particionamento (folhas secas, colmo e ponteiros) e a relação (N:P, N:K) destes nutrientes nas soqueiras de cana-de-açúcar com diferentes níveis de produtividade.

## Referências

ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS. **Anuário estatístico do setor de fertilizantes**. Disponível em:

<<http://www.anda.org.br/index.php?mpg=03.00.00>>. Acesso em: 11 set. 2015.

BARRETO, H.J.; WESTERMAN, R.L. Soil urease activity in winter wheat residue management systems. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 53, n. 10, p. 1455-1458, 1989.

BASANTA, M.V.; DOURADO-NETO, D.; REICHARDT, K.; BACCHI, O.O.S.; OLIVEIRA, J.C.M.; TRIVELIN, P.C.O.; TIMM, L.C.; TOMINAGA, T.T.; CORRECHEL, V.; CASSARO, F.A.M.; PIRES, L.F.; MACEDO, J.R. Management effects on nitrogen recovery in a sugarcane crop grown in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 116, p. 235-248, 2003.

BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.; REIS, V.M. Endophytic nitrogen fixation in sugar cane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 252, p. 139-149, 2003.

CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.R. Relationship between natures of soil humified fractions and their bioactivity. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 233-240, 2004.

CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.O.; OLIVARES, F.L.; FAÇANHA, A.R. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. **Plant Physiology**, London, v. 130, p. 1951-1957, 2002.

CANELLAS, L.P.; ZANDONADI, D.B.; OLIVARES, F.L.; FAÇANHA, A.R. Efeitos fisiológicos de substâncias húmicas: o estímulo às H<sup>+</sup>-ATPases. In: FERNANDES, M.S. (Org.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. v. 1, p. 175-195.

CANELLAS, L.P.; PICCOLO, A.; DOBBSS, L.B.; SPACCINI, R., OLIVARES, F.L.; ZANDONADI, D.B.; FACANHA, A.R. Chemical composition and bioactivity properties of size fractions separated from a vermicompost humic acid. **Chemosphere**, Oxford, v. 78, p. 457-466, 2010.

CANELLAS, L.P.; MARTÍNEZ, B.D.; MÉDICI, L.O.; AGUIAR, N.O.; CAMPOSTRINI, E.; ROSA, R.C.; FAÇANHA, A.; OLIVARES, F.L. A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 66, p. 119-132, 2012.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375-470.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O.; CONTIN, T.L.M.; DIAS, F.L.F.; ROSSETTO, R.; MARCELINO, R.; COIMBRA, R.B.; QUAGGIO, J.A. Ammonia volatilization from urease inhibitor-treated urea applied to sugarcane trash blankets. **Scientia Agricola**, Piracicaba v. 65, p. 397-401, 2008.

CARDOSO, T.F.; CAVALETT, O.; CHAGAS, M.F.; MORAIS, E.R.; CARVALHO, J.L.N.; FRANCO, H.C.J.; GALDOS, M.V.; SCARPARE, F. V.; BRAUNBECK, O. A.; CORTEZ, L. A. B.; BONOMI, A. Technical and economic assessment of trash recovery in the sugarcane bioenergy production system. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, p. 353-360, 2013.

CARNEIRO, A.E.V.; TRIVELIN, P.C.O.; VICTORIA, R.L. Utilização da reserva orgânica e de nitrogênio do tolete de plantio (colmo-semente) no desenvolvimento da cana-planta. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n. 2, p. 199-209, 1995.

CEDDIA, M.B.; RAVELLI N.A.; LIMA, E.; ANJOS, L.H.C.; SILVA, L.A. Sistemas de colheita da cana-de-açúcar e alterações nas propriedades físicas de um solo Podzólico Amarelo no Estado do Espírito Santo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, p.1467-1473, 1999.

ÇELIK, H.; KATKAT; A.V.; AŞIK B.B.; TURAN, M.A. Effect of foliar-applied humic acid to dry weight and mineral nutrient uptake of maize under calcareous soil conditions. **Communications Soil Science Plant Analysis**, New York, v. 42, p. 29-38, 2010.

CHIEN, S.H.; PROCHNOW, L.I.; CANTARELLA, H. Recent developments of fertilizer production and use to improve nutrient efficiency and minimize environmental impacts. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 102, p. 267-322, 2009.

COMPANHA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar, safra 2014/2015 - terceiro levantamento**. Brasília, 2015. 27 p.

COSTA, M.C.G.; VITTI, G.C.; CANTARELLA, H.. Volatilização de N-NH<sub>3</sub> de fontes nitrogenadas em cana-de-açúcar colhida sem despalha a fogo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 631-637, 2003.

DOBBSS, L.B.; CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L.; AGUIAR, N.O.; PERES, L.E.P.; AZEVEDO, M.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A.; FAÇANHA, A.R. Bioactivity of chemically transformed humic matter from vermicompost on plant root growth. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, p. 3681-3688, 2010.

DONG, L.; KREYLOS, A.L.; YANG, J.; YUANA, H.; SCOWB, K.M. Humic acids buffer the effects of urea on soil ammonia oxidizers and potential nitrification. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 4, p. 1612-1621, 2009.

DOURADO-NETO, D.; TIMM, L.C.; OLIVEIRA, J.C.M.; REICHARDT, K.; BACCHI, O.O.S.; TOMINAGA, T.T.; CÁSSARO, F.A.M. State-space approach for the analysis of soil water content and temperature in a sugarcane crop. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, p. 1215-1221, 1999.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. Londrina: Ed. Planta, 2006. 403 p.

FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C. Enhancing nitrogen in crop plants. **Advances in Agronomy**, Boca Raton, v. 88, p. 97-185, 2005.

FERNANDES, M.S.; SOUZA, S.R. Absorção de nutrientes. In: FERNANDES, M.S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. v. 1, p. 115-152.



FORTES, C.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C.; FERREIRA, D.A.; FRANCO, H.C.J.; OTTO, R. Recovery of nitrogen ( $^{15}\text{N}$ ) by sugarcane from previous crop residues and urea fertilization under a minimum tillage system. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 13, p. 42-46, 2011.

FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, E.C.A.; TRIVELIN, P.C.O. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer in Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 121, p. 29-41, 2011.

FRANCO, H.C.J.; PIMENTA, M.T.B.; CARVALHO, J.L.N.; MAGALHAES, P.S.G.; ROSSELL, C.E.V.; BRAUNBECK, O.A.; VITTI, A.C.; KOLLN, O.T.; ROSSI N.J. Assessment of sugarcane trash for agronomic and energy purposes in Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, p. 305-312, 2013.

GALDOS, M.V.; CERRI, C.C.; CERRI, C.E.P. Soil carbon stocks under burned and unburned sugarcane in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 153, p. 347-352, 2009.

GOLDEMBERG, J.; COELHO, S.T.; GUARDABASSI, P. The sustainability of ethanol production from sugarcane. **Energy Policy**, London, v. 36, p. 2086-2097, 2008.

GRAHAM, M.H.; HAYNES, R.J.; MEYER, J.H. Changes in soil chemistry and aggregate stability induced by fertilizer applications, burning and trash retention on a long-term sugarcane experiment in South Africa. **European Journal of Soil Science**, Paris, v. 53, p. 589-598, 2002.

HALPERN, M.; BAR-TAL, A.; OFEK, M.; MINZ, D.; MÜLLER, T.; YERMIYAHU U. The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 130, p. 141-174, 2014.

KORNDORFER, G.H. Importância da adubação na qualidade da cana-de-açúcar. **STAB. Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 10, n. 3, p. 26-31, 1992.

LAZZARINI, P.R.C. **Substâncias húmicas extraídas de turfa associadas com N-ureia: influência no crescimento da cana-de-açúcar e nas transformações do N no solo**. 2014. 82 p. dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

MACEDO, I.C.; SEABRA, J.E.A.; SILVA, E.A.R. Greenhouse gases emissions in the production and use of ethanol from sugarcane in Brazil: the 2005/2006 averages and a prediction for 2020. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 32, p. 582-595, 2008.

MACKOWIAK, C.L.; GROSSL, P.R.; BUGBEE, B.G. Beneficial effects of humic acid on micronutrient availability to wheat. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, n. 6, p. 1744-1750, 2001.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

MARIANO, E.; LEITE J.M.; MEGDA M.X.V.; TORRES-DORANTE, L.; TRIVELIN, P.C.O. Influence of nitrogen form supply on soil mineral nitrogen dynamics, nitrogen uptake, and productivity of sugarcane. **Agronomy Journal**, Madison, v. 107, p. 641-650, 2015.

MARIANO, E.; TRIVELIN, P.C.O.; VIEIRA, M.X.; LEITE, J.M.; OTTO, R.; FRANCO, H.C.J. Ammonia losses estimated by an open collector from urea applied to sugarcane straw. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, p. 411-418, 2012.

MORA, V.; BACAICOA, E.; ZAMARREÑO, A.M.; AGUIRRE, E.; GARNICA, M.; FUENTES, M.; GARCIA-MINA, J.M. Action of humic acid on promotion of cucumber shoot growth involves nitrate-related changes associated with the root-to-shoot distribution of cytokinins, polyamines and mineral nutrients. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 167, p. 633-642, 2010.

MUSCOLO, A.; SIDARI, M.; NARDI, S. Humic substance: relationship between structure and activity. Deeper information suggests univocal findings. **Journal Geochemical Exploration**, Amsterdam, v. 129, p. 57-63. 2013.

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A.; VIANELLO, A. Physiological effects of humic substances on higher plants. **Soil Biological & Biochemistry**, Oxford, v. 34, p. 1527-1536, 2002.

NARDI, S.; MUSCOLO, A.; VACCARO, S.; BAIANO, S.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A. Relationship between molecular characteristics of soil humic fractions and glycolytic pathway and Krebs cycle in maize seedlings. **Soil Biological & Biochemistry**, Oxford, v. 39, p. 3138-3146, 2007.

NOVACANA. Disponível em: <<http://www.novacana.com/estudos/a-cana-de-acucar-como-fonte-de-energia-eletrica-241013/>>. Acesso em: 10 set. 2015.

OLIVEIRA, M.W.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J. C.; PENATTI, C.P. Degradação da palhada de cana-de-açúcar. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 803-809, 1999.

OLIVEIRA, E.C.A.; OLIVEIRA, R.I.; ANDRADE, B.M.T.; FREIRE, F.J.; LIRA-JUNIOR, M.A.; SIMÕES NETO, D.E. Crescimento e acúmulo de matéria seca em variedades de cana-de-açúcar cultivadas sob irrigação plena. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, p. 951-960, 2010.

OTTO, R.; MULVANY, R. L.; KHAN, S. A.; TRIVELIN, P.C.O. Quantifying soil nitrogen mineralization to improve fertilizer nitrogen management of sugarcane. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 49, p. 893-904, 2013.

PERTUSATTI, J.; PRADO, A.G.S. Buffer capacity of humic acid: thermodynamic approach. **Journal of Colloid and Interface Science**, New York, v. 314, p. 484-489, 2007.

QUAGGIOTTI, S.; RUPERT, B.; PIZZEGHELLO, D.; FRANCIOSO, O.; TUGNOLI, V.; NARDI, S. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 803-813, 2004.

ROSE, M.T.; PATTI, A.F.; LITTLE, K.R.; BROWN, A.L.; JACKSON, W.R.; CAVAGNARO, T.R. A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 124, p. 37-89, 2014.

SILVA-OLAYA, A.M.; CERRI, C.E.P.; SCALA Jr., N.L.; DIAS, C.T.S.; CERRI, C.C. Carbon dioxide emissions under different soil tillage systems in the cultivation of mechanically harvested sugarcane. **Environmental Research Letters**, Cambridge, v. 8, p. 015014, 2013.

SUTTON, R.; SPOSITO, G. Molecular structure in soil humic substances: the new view. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 39, p. 9009-9015, 2005.

THORN, K.A.; MIKITA, M.A.; Ammonia fixation by humic substances: a nitrogen-15 and carbon-13 NMR study. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 113, p. 67-87, 1992

TRIVELIN, P.C.O. **Utilização do nitrogênio pela cana-de-açúcar: três casos estudados com o traçado 15N**. 2000. 143 p. Tese (Livre-Docência) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

TRIVELIN, P.C.O. ; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, M.W.; GAVA, G.J.; SARRIÉS, G.A. Utilização de nitrogênio e produtividade da cana-de-açúcar (cana-planta) em solo arenoso com incorporação de resíduos da cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, n. 3, p. 636-646, 2002a.

TRIVELIN, P.C.O.; OLIVEIRA, M.W.; VITTI, A.C.; GAVA, G.J.C.; BENDASSOLLI, J.A. Perdas de nitrogênio da uréia no sistema solo-planta em dois ciclos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, p193-201, 2002b.

TRIVELIN, P.C.O.; FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; FERREIRA, D.A.; VITTI, A.C.; FORTES, C.; FARONI, C.E.; OLIVEIRA, E.C.A.; CANTARELLA, H. Impact of sugarcane trash on fertilizer requirements for São Paulo, Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, p. 345-352, 2013.

VIEIRA-MEGDA, M.X.; MARIANO, E.; LEITE, J.M.; FRANCO, H.C.J.; VITTI, A.C.; MEGDA, M.M.; KHAN, S.A.; MULVANEY, R.L.; TRIVELIN, P.C.O. Contribution of fertilizer nitrogen to the total nitrogen extracted by sugarcane under Brazilian field conditions. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 101, p. 241-257, 2015.

VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; FRANCO, H.C.J.; BOLOGNA, I.R.; FARONI, C.E. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada à localização de adubos

nitrogenados aplicados sobre resíduos culturais em canavial sem queima. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 491-498, 2007.

WITTE, C.P. Urea metabolism in plants. **Plant Science**, Amsterdam, v. 180, p. 431-438, 2011.

ZANDONADI, D.B.; CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H<sup>+</sup> pumps activation. **Planta**, New York, v. 225, p. 1583-1595, 2007.

## 2 CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E MISTURAS COM UREIA: EFEITO TAMPÃO, HIDRÓLISE E VOLATILIZAÇÃO DE NH<sub>3</sub>

### Resumo

A mistura de substâncias húmicas (SH) com ureia pode alterar a hidrólise do fertilizante e reduzir a volatilização de NH<sub>3</sub>, quando aplicada sobre a palha de cana-de-açúcar. Com base nesta hipótese, objetivou-se com este estudo avaliar e caracterizar SH extraídas de turfa em misturas com soluções de N-ureia, o poder tampão, e o seu efeito na redução da volatilização e na hidrólise em solução. Foram realizados estudos de laboratório divididos em três experimentos. O primeiro constou da extração, purificação e determinação das SH, separando-se em frações de ácidos húmicos (AH) e de ácidos fúlvicos (AF). Foram avaliados dois tipos de extratores alcalinos NaOH e KOH. Em seguida realizaram-se avaliações de pureza e de poder tampão. Observou-se que as amostras comerciais de turfa e leonardita apresentaram maior poder tampão em relação às amostras extraídas em laboratório. Um segundo experimento constou da mistura de SH com proporções crescentes de ureia. Foi realizada incubação por 10 dias de misturas de 150 g de SH com doses crescentes de ureia (0%, 5%, 10%, 15% e 20% de N) e coletadas alíquotas a cada dois dias para determinar o teor de N-total e N-mineral (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Foi possível observar que as amostras de SH de leonardita têm a capacidade de manter o N na forma amídica, enquanto nas amostras de SH de turfa ocorreu a hidrólise do N-amídico transformando-o em N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. No terceiro e último experimento de laboratório avaliou-se a volatilização de amônia da ureia aplicada ao solo associado às SH e com correções do pH da solução. Observou-se nesse terceiro experimento que a mistura da solução de SH com ureia e com o pH corrigido (pH=7) possibilitou redução nas perdas de NH<sub>3</sub> por volatilização. Resultado semelhante também foi obtido quando foi feita a aplicação do inibidor da enzima urease (NBPT) associado à ureia.

Palavras-chave: Ácidos húmicos; Ácidos fúlvicos; Caracterização; Nitrogênio; RMN

### Abstract

Mixture of humic substances (HS) with urea can alter the hydrolysis and reduce NH<sub>3</sub> volatilization when applied over the straw of sugarcane. The aim of this study was to evaluate and characterized HS extracted from peat mixture with N-urea solutions, buffering capacity, and the effect on reducing volatilization and hydrolysis of the urea solution. Lab studies were performed, divided in three experiments; the first consisted of the extraction and characterization of HS, fractionating into humic acids (HA) and fulvic acids (FA). It was evaluated two types of alkaline extractors

NaOH and KOH. It was observed that the commercial samples of peat and leonardite showed higher buffering capacity when compared than samples extracted on laboratory. The second experiment consisted of two HS mixture with increasing proportions of urea. Incubation for 10 days of 150 g of HS with increasing urea rates was performed (0, 5, 10, 15, and 20% N), and aliquots were collected every two days to estimate total-N content and mineral-N ( $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$ ). Leonardite samples have the ability to maintain N in amide form, while the peat HS samples perform the hydrolysis of the amidic source transforming it into  $\text{N-NH}_4^+$ . The third experiment evaluated the ammonia volatilization from urea+HS with pH corrections applied on the soil with sugarcane straw. We observed that the mixture of HS solution with urea and the pH correction (pH = 7) it is possible to reduce  $\text{NH}_3$  volatilization losses. Similar results were also obtained when it is done the application of the inhibitor of the enzyme urease (NBPT) associated with urea.

Keywords: Humic acids; Fulvic acids; Characterization; Nitrogen; NMR

## 2.1 Introdução

A matéria orgânica do solo (MOS) é o material residual proveniente de vegetais, animais e microrganismos, em seus mais variados graus de decomposição. A MOS quando estabilizada no último grau de recalcitrância se encontra principalmente na forma de substâncias húmicas (SH) (STEVENSON, 1994; SUTOON; SPOSITO, 2005). As SH são os compostos orgânicos mais presentes na terra e constituem 60% da MOS dos solos (MUSCOLO et al., 2013). Estes compostos orgânicos são misturas complexas e heterogêneas, que formam materiais polidispersos por meio de reações químicas e bioquímicas da decomposição e transformação de restos de plantas e microrganismos do solo (STEVENSON, 1994; MUSCOLO et al., 2013).

As SH são altamente reativas e recalcitrantes em relação à biodegradação microbiana e apresentam propriedades químicas e peso molecular variado (STEVENSON, 1994). A composição química estrutural das SH tem sido muito estudada, embora haja certa controvérsia científica por muitos anos, e alguns pesquisadores afirmaram que são coloides complexos e ou super-misturas que nunca foram separados em componentes puros (STEVENSON, 1994; CANELLAS; SANTOS, 2005; MUSCOLO et al., 2013). Devido as essas características supra-moleculares, para fins de comparação de resultados, tem sido realizado o fracionamento das SH de acordo com a variação do valor de pH e o grau de

solubilidade das SH. São, assim, classificadas em três principais grupos: a) ácidos húmicos (AH) que são definidos como a fração solúvel em meio alcalino, a qual precipita pela acidificação da solução; b) ácidos fúlvicos (AF) que permanecem em solução com o extrato da solução independentemente de o meio estar ácido ou alcalino e c) humina que é a fração sólida em meio alcalino ou ácido (STEVENSON, 1994; SUTOON; SPOSITO, 2005).

Em alguns países, inclusive no Brasil tem sido intensificado o uso das SH extraídas de leonardita ou de turfa como fertilizantes na agricultura (ROSE et al., 2014). No entanto, o uso comercial das SH compreende apenas as frações: AH e AF que são obtidas por meio de uma extração alcalina (MUSCOLO et al., 2013; ROSE et al., 2014). Na literatura internacional, as SH quando utilizadas como fertilizante são classificadas como bioestimulantes (HALPERN et al., 2014), por apresentarem diversos efeitos fisiológicos, como: estímulo no crescimento de raiz (CANELLAS et al., 2002, 2012; ZANDONADI et al., 2007), alteração na arquitetura do sistema radicular (DOBBSS et al., 2010; LAZZARINI, 2014), aumento do crescimento da parte aérea (MORA et al., 2010), aumento na absorção de nutrientes (QUAGGIOTTI et al., 2004; ÇELIK et al., 2011) e aumento da atividade da H<sup>+</sup>ATPases (NARDI et al., 2002; CANELLAS et al., 2006).

Estudos relataram efeito sinérgico das SH com aumento da absorção de nutrientes, inclusive para o N. Ahmed et al. (2006) demonstraram efeito sinérgico no uso da ureia associada aos ácidos húmicos (AH). Porém pouco se sabe a respeito dos mecanismos pelo qual o AH aumentam os benefícios da adubação nitrogenada com ureia (DONG et al., 2009; KASIM et al., 2009). Uma explicação avaliada por Dong et al. (2009) é que o AH associado com a ureia reduz a ação da enzima urease podendo reduzir perdas de N e ainda causar um efeito tampão no pH do solo (PERTUSATTI; PRADO, 2007). No entanto, estes estudos foram realizados em laboratório com solos incubados e usando uma única fonte de SH proveniente de lignito (DONG et al., 2009). Por isso são necessários estudos adicionais, visto que, diferentes fontes de SH podem apresentar resultados contraditórios (CANELLAS et al., 2010; ROSE et al., 2014).

Dessa forma, torna-se necessária a caracterização das SH, bem como entender o comportamento do N-ureia associado às estas moléculas complexas. A aplicação de SH pode reduzir a perda de N-amônia proveniente da ureia, aumentando a retenção do N na forma de amônio no solo (KASIM et al., 2009;

PAIVA et al., 2012). Por causa de seu efeito tamponante e da sua capacidade de interferir nas reações do solo, as SH podem reduzir a atividade da enzima urease (DONG et al., 2009; PERTUSSATI; PRADO, 2008). Nesse sentido, foram realizados experimentos com o objetivo de avaliar e caracterizar SH extraídas de turfa em misturas com soluções de N-ureia, além de quantificar o poder tampão e o seu efeito na redução da volatilização e na hidrólise da ureia em solução.

## **2.2 Material e Métodos**

### **2.2.1 Processo de extração das SH e AH**

O experimento foi realizado no Laboratório de Isótopos Estáveis, no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA-USP), em Piracicaba, SP. Foram realizadas as extrações das SH, AH e AF conforme descrito na Figura 2.1. Na extração utilizou-se a razão turfa e extrator na proporção 1:10 com os extratores: KOH ( $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ) ou NaOH ( $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ). As amostras foram mantidas em repouso por 12 horas em tubos Falcon de 50 mL, em seguida o material foi centrifugado ( $4000 \text{ rpm}$  por 30 minutos) para separar a humina (fração insolúvel) das SH (AH + AF). Para o fracionamento em AH e AF, as SH foram acidificadas com HCl ( $6 \text{ mol L}^{-1}$ ), ajustando-se o pH para valor menor que 2, mantendo-se em temperatura ambiente por 12 horas para decantação. Posteriormente a solução foi novamente centrifugada ( $4000 \text{ rpm}$  por 30 minutos), sendo o sobrenadante descartado. O material decantado foi solubilizado com solução de NaOH e KOH ( $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ) até pH 7,0, obtendo-se dessa forma, as frações AH e AF (Figura 2.1). Todo o procedimento foi realizado em triplicata. O processo de extração foi realizado conforme descrito pela International Humic Substance Society (IHSS), segundo Barros et al. (1994). Foram obtidos quatro tipos de amostras: 1 e 2 – SH proveniente da extração com KOH e do NaOH; 3 e 4- AH proveniente da extração com KOH e NaOH.



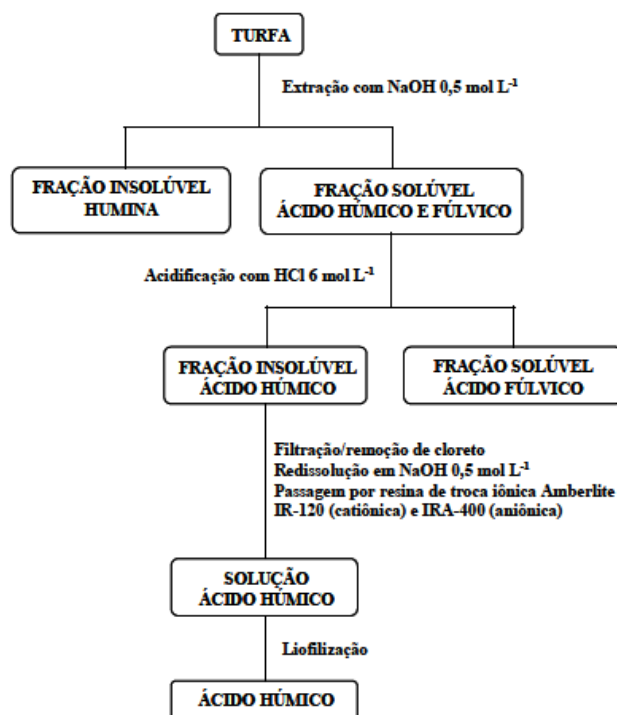


Figura 2.1 - Processo de extração, purificação e obtenção do AH descrito por IHSS e adaptado por Barros et al., (1994).

### 2.2.2 Caracterização

Após extração, acidificação, diálise e liofilização (Figura 2.1), as amostras de AH foram caracterizadas por diversos procedimentos analíticos, a saber: por análise elementar, acidez total, carboxílica, ressonância magnética nuclear (RMN de <sup>13</sup>C) e o espectro de infravermelho com transformada de Fourier dos AH.

As análises elementares foram realizadas pela Central de Análises Químicas e Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, SP, utilizando-se o aparelho CE Instruments EA 1110 CHNS–Fisons, com detector de condutividade térmica. Quantificaram o carbono, o hidrogênio, o nitrogênio e o enxofre (% em massa). O teor de oxigênio foi obtido pela diferença [100 – (%C + %H + %N + %S)] (CAMPOS et al., 2007). A composição elementar de AH foi: C (15,7%), H (3,4%), N (1,4%), O (79,5%), S (0%), com relação atômica de H/C (2.61), O/C (3.83), e C/N

(12). Estes dados indicaram que a amostra de AH apresentava uma concentração relativamente alta de oxigênio ligados a grupamentos alquílicos e de ácidos carboxílicos (SANCHES et al., 2007). Uma diminuição na razão O/C significa aumento do número de anéis condensados (CANELLAS et al., 2010). Outra confirmação do grau de condensação dos anéis aromáticos é a razão H/C (SANCHES et al., 2007). A razão C/N é um indicativo da origem das SH em ambientes naturais. Razões C/N abaixo de 20 podem indicar que o processo de humificação foi mais favorecido pela atividade microbiana (CANELLAS et al., 2006).

A acidez das SH e dos AH foi determinada por titulação potenciométrica em duas reações distintas: uma para determinação da acidez carboxílica e outra para acidez total. Para a determinação da acidez carboxílica, amostras de 20 mg de SH e AH foram colocadas em erlenmeyers juntamente com 50 mL de solução 0,2 mol/L de acetato de cálcio, em água livre de CO<sub>2</sub>. A solução ficou em agitação por 24 horas em atmosfera livre de O<sub>2</sub>. A suspensão foi filtrada em papel filtro, em seguida lavada com água livre de CO<sub>2</sub>. A mistura (filtrado + água de lavagem) foi titulada com solução de NaOH 0,100 mol/L padronizada. A variação do pH foi acompanhada em pH-metro, até pH=9,8. A acidez carboxílica para AH e SH foi: 3,37 e de 4,05 mmol g<sup>-1</sup>, respectivamente. Para avaliar a acidez total, em 20 mL de solução de hidróxido de bário (0,125 mol L<sup>-1</sup>) foram adicionados 50 mg de AH ou SH. Agitou-se por 24 horas, isolada do ar, filtrou-se com papel de filtro, em seguida o resíduo foi lavado com água, livre de CO<sub>2</sub>. A mistura (filtrado+água de lavagem) foi titulada com solução padronizada de HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup>, sob atmosfera inerte. A titulação foi acompanhada com auxílio de um pH-metro até pH=8,4. Da mesma forma foi realizado o preparo para o branco, constituído apenas por 20 mL de solução de Ba(OH)<sub>2</sub> 0,125 mol L<sup>-1</sup>. A acidez total para AH e SH foi: 5,9 e de 8,3 mmol g<sup>-1</sup>, respectivamente.

A espectroscopia no infravermelho foi realizada na Central de Análises Químicas e Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, SP (ANEXO 1). Informações sobre os grupos funcionais como ácidos carboxílicos, aminas, hidróxidos e grupos alifáticos, dentre outros podem ser obtidas em Campos et al. (2007). Os espectros foram obtidos a partir de pastilhas de brometo de potássio (KBr), tendo 1,0 mg da amostra das substâncias húmicas e 10,0 mg de KBr, sido colocados em um almofariz de ágata, para o preparo da pastilha a ser analisada. As análises foram realizadas em espectrômetro com transformada de

Fourier, da marca Bomem MB- 102. Foram realizadas 16 varreduras com resolução espectral de  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de  $^{13}\text{C}$ -NMR das amostras de SH e AH foi determinado em um espectrômetro Varian Mercury Plus 300 operado em temperatura ambiente, no Instituto de Química de São Carlos-SP (ANEXO 2). As amostras foram compactadas em um rotor de nitreto de silício de 7 mm e as medidas foram batidas em frequência de 75,47 MHz com velocidade do ângulo de 3 kHz. A técnica de CP/MAS, com repetições de pulso de 2 s e tempo de contato de 4 ms foi utilizada a fim de aumentar a relação sinal/ruído nos espectros de estado sólido.

### 2.2.3 Determinação do poder tampão

A capacidade de tamponamento de uma solução tampão é uma medida da capacidade dessa solução de resistir a variações de pH, quando da adição de um ácido forte ou de uma base forte. De acordo com Pertusatti e Prado (2007) a capacidade tamponante é definida como:

$$B = \left( \frac{dC_b}{dpH} \right) = \left( - \frac{dC_a}{dpH} \right)$$

sendo  $C_a$  e  $C_b$  as quantidades necessárias de ácido ou base para produzir a variação de uma unidade de pH, em um volume de solução tampão. Quanto maior o valor de  $\beta$ , maior é a resistência do tampão a variação de pH (PERTUSATTI; PRADO, 2007). Foram utilizadas amostras de AH e SH obtidas da extração descrita anteriormente, além de duas amostras de SH de produto comercial proveniente de turfa e de leonardita. A capacidade tampão foi determinada por titulações potenciométricas, utilizando-se um pH-metro. Em uma suspensão de 20,0 mg de AH e SH em 50 mL de água, sob agitação magnética, as amostras foram tituladas com ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$   $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ , padronizado), e depois com hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$   $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ , padronizado). Foi realizada também uma titulação na ausência de AH e SH, para verificar a variação do pH em água. Este procedimento foi realizado em todas as amostras extraídas anteriormente, em triplicatas para cada extrator.

### 2.2.4 Mistura de SH de turfa e leonardita em doses crescentes de ureia

Este experimento foi conduzido no Laboratório de Isótopos Estáveis, no CENA-USP, Piracicaba, SP. Foram utilizadas SH provenientes de turfa, de leonardita e também uma solução com água. As concentrações de ureia foram crescentes e adicionadas conforme descrito na Tabela 2.1. Antes da adição da ureia foi realizado a correção do pH da solução (pH = 7,5). Em seguida, foram adicionados 150 g de SH provenientes do processo de extração conforme metodologia estabelecida pela IHSS (International Humic Substances Society), segundo Barros et al. (1994) e/ou 150 g de água nos frascos de vidros com as doses de ureia. Os frascos de vidros foram incubados sem tampa em temperatura ambiente variando de 20 a 25°C. Antes de cada determinação, as amostras eram colocadas em uma mesa agitadora e agitadas por 30 minutos a 180 rpm. Foram coletadas alíquotas de 2 mL da solução no 1º, 3º, 5º e 10º dia após a mistura para a determinação do teor de N-total e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (CANTARELLA; TRIVELIN, 2001). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições (Tabela 2.1).

Tabela 2.1 - Descrição dos tratamentos com substâncias húmicas (SH) associados a doses de N-ureia incubadas durante 10 dias para avaliar a retenção de N

Descrição dos tratamentos	% de N-ureia	Fator <sup>1</sup>	Massa de Ureia (g) <sup>2</sup>
0%	0	150 g de SH de turfa	0
5%	5	150 g de SH de turfa	18,30
10%	10	150 g de SH de turfa	42,00
15%	15	150 g de SH de turfa	72,60
LEO15	15	150 g de SH de leonardita	72,60
ÁGUA15	15	150 g de água	72,60
20%	20	150 g de SH de turfa	115,50

<sup>1</sup>A percentagem de N, foi adicionada considerando a massa final da solução (SH + ureia).<sup>2</sup> O teor de N da ureia foi de 46% de N.

Cada parcela constou inicialmente de um frasco com 150g de SH e N na forma de ureia; foram realizadas quatro determinações ao longo do período de incubação, conforme descrito na Tabela 2.1. Para determinar o teor de N-total foi obtido o volume de 2 mL da solução que foram diluídos em água deionizada em

balões de 100 mL, retirando-se logo em seguida uma alíquota de 5 mL da solução diluída que foi colocada em tubo de ensaio, juntamente com a solução digestora descrita por Cantarella e Trivelin (2001a). Estas amostras foram levadas para o bloco digestor e submetidas à temperatura de até 350°C, partindo-se da temperatura ambiente e aumentando-se 50°C a cada 30 minutos, até atingir a temperatura máxima. Posteriormente, todo o N foi transformado na forma amoniacal após a destilação, capturado em solução de ácido bórico contendo indicadores, logo em seguida titulado com ácido sulfúrico padronizado de acordo com o método de Kjeldahl, conforme descrito por Cantarella e Trivelin (2001a).

Para a determinação do N-mineral foi coletada uma alíquota de 10 mL da solução diluída e adicionada ao balão para destilação junto com 200 mg de óxido de magnésio (MgO). O MgO tem a função de alcalinizar o meio brandamente, fazendo com que todo o  $\text{NH}_4^+$  livre transforme-se em  $\text{NH}_3$  e seja arrastado junto com o vapor de água no destilador. Em seguida foi capturado pela solução com ácido bórico contendo indicadores e, a seguir, foi titulada com solução de ácido sulfúrico padronizado ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ), conforme método descrito por Cantarella e Trivelin (2001b).

### **2.2.5 Avaliação da volatilização de $\text{NH}_3$ proveniente da aplicação de ureia com SH e inibidor de urease**

O experimento foi realizado entre 18 de abril e 10 de maio de 2012, no Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA-USP em Piracicaba, SP. O solo foi coletado, na camada de 0-20 cm, em área de produção de cana-de-açúcar, seco e peneirado. O solo foi classificado como LATOSSOLO VERMELHO distrófico (LVd), com pH ( $\text{CaCl}_2$ ) de 4,8. Foram distribuídos 2 kg de solo em cada bandeja com as dimensões de 30 x 20 x 10 cm. A umidade do solo durante o período experimental foi corrigida para 60% da capacidade de máxima retenção de água. Para favorecer a volatilização colocou-se uma camada de palha sobre a superfície do solo, equivalente a cerca de  $15 \text{ t ha}^{-1}$  (90 g de palha por bandeja).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com seis tratamentos, sendo: T1: ureia ; T2: ureia recoberta com NBPT; T3: ureia solubilizada em SH sem correção do pH da solução (pH=9.0); T4: ureia solubilizada em SH com pH da solução corrigido (pH=7.0) com  $\text{H}_3\text{PO}_4$  ( $2 \text{ mol L}^{-1}$ ); T4: ureia solubilizada em

SH e com pH corrigido (pH=7.0) com adição de NBPT (1060 mg de NBPT por kg de ureia); e T6: ureia solubilizada em SH sem correção do pH da solução (pH=9.0) com adição de NBPT (1060 mg de NBPT por kg de ureia). Cada tratamento constou de quatro repetições. Os tratamentos com ureia solubilizada em SH continham 15% de N na solução final (ureia + SH). A aplicação dos fertilizantes foi em superfície sobre a palhada, na forma de filete contínuo na dose equivalente a  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  ( $1.050 \text{ mg de N/bandeja}$ ), considerando-se um espaçamento de 1,5 m entre linhas de cana-de-açúcar.

Para capturar a amônia volatilizada utilizou-se um coletor aberto adaptado de Mariano et al. (2012), confeccionado em placa rígida de PVC, constituído de uma caixa nas dimensões 14 x 14 x 7 cm com uma de suas maiores áreas abertas e voltadas para o solo. No interior da caixa, fixou-se uma espuma absorvedora, com 15 cm de diâmetro, 2 cm de espessura e densidade de  $0,02 \text{ g cm}^{-3}$ . Os coletores foram colocados a 1 cm da superfície do solo, com o apoio de quatro bases de plásticos. As espumas utilizadas foram embebidas com 25 mL de solução de ácido fosfórico ( $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  contendo 5% de glicerol).

As amostragens constituíram-se das trocas das espumas que ocorreram aos 2, 3, 5, 7, 9, 12, 16 e 21 dias da aplicação dos tratamentos. Para determinação da amônia retida nas espumas, realizou-se a extração com 400 mL de água deionizada. Analisou-se uma alíquota do extrato por meio de um sistema por injeção em fluxo (FIA) para a determinação da concentração de  $\text{N-NH}_4^+$ . O amônio foi determinado a partir da formação de amônia em meio alcalino, permeável em membrana hidrofóbica (PTFE), sendo o fluxo direcionado para uma célula de condutividade, conforme metodologia descrita por Reis et al. (1997). Os resultados foram submetidos à análise de variância e ao teste de t-LSD, a 5% probabilidade.

## **2.3 Resultados**

### **2.3.1 Poder tampão**

As amostras de SH e AH provenientes da extração de KOH e NaOH apresentaram resultados diferentes de poder tampão em relação às amostras comerciais (Figura 2.2). Os dados confirmam que as SH e os AH apresentam comportamento tampão, principalmente nos valores de pH de 6 a 9, com grande

destaque para as amostras comerciais de SH. Isso ocorre por que as concentrações de AH e AF dos produtos comerciais são maiores em relação aos extraídos nos laboratórios, uma vez que no processo de extração, a relação substrato: solução alcalina é maior nos produtos comerciais o que confere maior concentração de AH e AF no produto final (CANELLAS et al., 2010). Devido à grande quantidade de grupos funcionais, as SH podem ser consideradas como um agregado complexo de vários ligantes heterogêneos (SUTOON; SPOSITO, 2005). Nesse sentido, ocorre maior poder tampão devido à quimissorção dos íons hidroxilas pela superfície das SH e dos AH (CANELLAS et al., 2010).

Ao analisar apenas os produtos obtidos em laboratórios (Figura 2.2), observou-se que as SH, seja extraídas com KOH ou NaOH, apresentaram o maior poder de tamponamento em relação às amostras somente com AH. Apesar da pouca diferença entre os tratamentos é possível observar maiores valores de poder tampão nas SH ao comparar esses dados com valores obtidos da literatura (PERTUSATTI; PRADO, 2007). Portanto, o processo de extração e a relação substrato:extrator interferem na quantidade final de SH extraídas e consequentemente nas propriedades dos AH e AF (CANELLAS et al., 2010).

A diferença nos resultados ocorreu porque os extratores (NaOH, KOH e HCl) utilizados no processo de extração interferem na capacidade tamponante (PERTUSATTI; PRADO, 2007), ao passo que se torna necessário um processo mais detalhado e rigoroso na purificação dos produtos para estimar com maior precisão a capacidade tamponante (CANELLAS et al., 2010; ROSE et al., 2014). Esse processo de purificação consiste na diálise das amostras para eliminar os sais formados e no processo de liofilização para retirar a água da solução, com isso obtém-se apenas AH purificado (PERTUSATTI; PRADO, 2007).

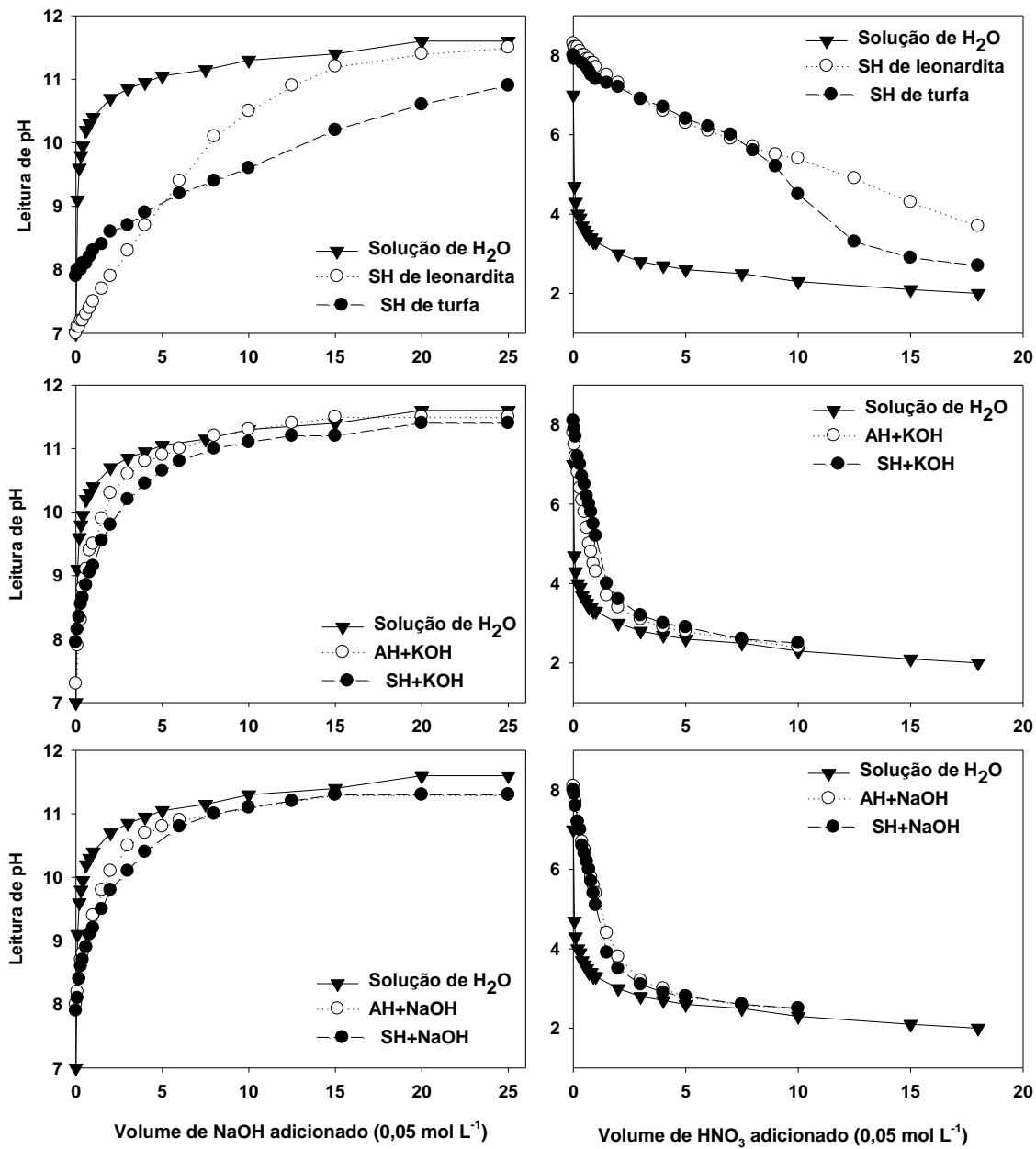


Figura 2.2 - Capacidade tampão de diferentes amostras de AH e SH em função do pH

### 2.3.2 Hidrólise de ureia em misturas com SH

As concentrações de  $\text{N-NH}_4^+$  das amostras ao longo do tempo de incubação são indicadas na Figura 2.3. Durante o tempo de incubação as concentrações de  $\text{N-NH}_4^+$  variaram de 0 nos tratamentos em solução de ureia + leonardita e ureia + água



até  $45 \text{ mg g}^{-1}$  no tratamento com ureia 5% + SH de turfa (Figura 2.3B). Para a ureia + leonardita e ou ureia + água, mesmo com 15% de N na forma de ureia, não houve formação do N amoniacal. Isso ocorreu, provavelmente, pelo fato de essas soluções não conterem a enzima urease. Esta enzima catalisa a hidrólise da ureia transformando-a em amônio e  $\text{CO}_2$  (CANTARELLA et al., 2008; KRAJEWSKA, 2009). Além disso, a urease está presente em resíduos vegetais nos solos e nos animais (CANTARELLA, 2007; WITTE, 2011).

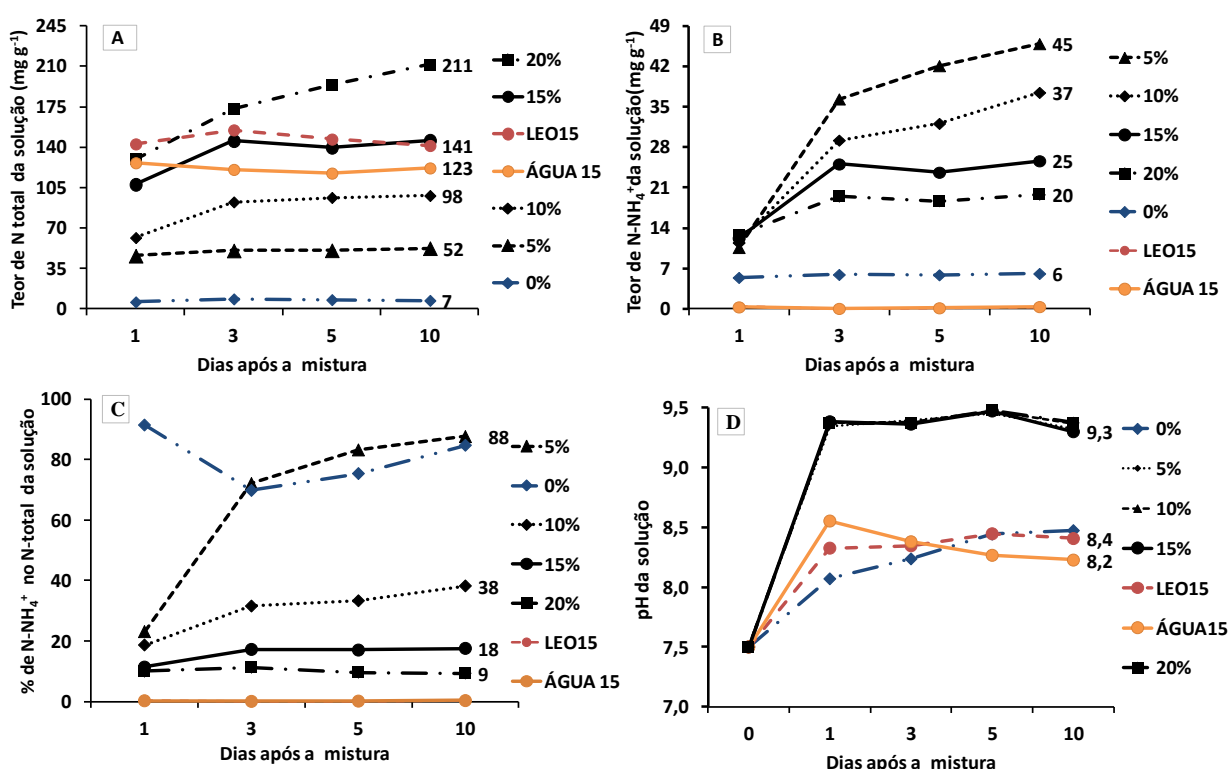


Figura 2.3 - Concentrações de N-Total (A);  $\text{N-NH}_4^+$  (B); % de  $\text{N-NH}_4^+$  no N-total da solução (C) e pH da solução (D) proveniente da mistura de substâncias húmicas oriundas de turfa com diferentes concentrações de ureia (0%, 5%, 10%, 15% e 20% de N) e LEO15= substâncias húmicas oriundas de leonardita com 15% de N-ureia e ÁGUA 15%= solução de água com 15% de N-ureia

Pelo fato de as SH serem provenientes da leonardita e não apresentarem amônio em sua solução, a explicação para a ocorrência desse comportamento é a ausência da enzima urease (ROSE et al., 2014), uma vez que as outras soluções de SH são provenientes de turfa, que são sedimentos de origem vegetal com presença da enzima (CANTARELLA et al., 2008). Com o passar dos dias após a mistura dos

fertilizantes foi observado aumento da concentração de amônio nas amostras, principalmente nos tratamentos com menor porcentagem de N ureia (5% e 10%) (Figura 2.3 B). Com o aumento da concentração de N nas soluções, os teores de amônio diminuíram. Uma possível explicação, é que o substrato ureia e a produção de íons amônio podem atuar como inibidores não competitivos da enzima urease, reduzindo a hidrólise da ureia (KRAJEWSKA, 2009; WITTE 2011). Por isso nos tratamentos com maiores porcentagens de N ureia + SH houve menor concentração de amônio, de 19,8 mg g<sup>-1</sup> no tratamento com 20% de N ureia, enquanto que com 5% de N-ureia foi de quase 46 mg g<sup>-1</sup> de N amônio (Figura 2.3B). Isso sugere que ao se produzir uma mistura visando redução de perdas de N na forma de amônia, deve-se trabalhar com concentração maior de N na solução.

Ao determinar a concentração de N total das amostras (Figura 2.3A), observou-se que, quando ocorreu aumento da porcentagem de N-ureia adicionado nas soluções, ocorreu também aumento no teor de N total da solução. Este teor variou de 7 a 211 mg/g, respectivamente, nos tratamentos com 0 e 20% de N-ureia em SH. Nos tratamentos SH+ureia, água+ureia e leonardita+ureia que tinham a mesma porcentagem de N-ureia (15%) houve apenas mudança da fonte de SH, que foram: leonardita, turfa e água. Observou-se pequena diferença na concentração final de N total, variando de 122 a 145 mg/g. Ocorreu a elevação do teor de N-total com o tempo após a mistura dos fertilizantes, principalmente no tratamento com maior porcentagem de N-ureia (20%). Mesmo agitando-se a solução por 30 minutos antes de cada determinação, esse procedimento não foi suficiente para solubilizar toda a ureia. Observou-se que com o passar do tempo a ureia foi solubilizando e aumentando a concentração de N total na solução. Ao se observar a porcentagem de N amônio em relação ao N-total da solução (Figura 2.3C), constatou-se que os tratamentos com LEO 15% e ÁGUA 15% apresentaram 0% de N amônio, enquanto o tratamento com SH+ureia com 5% de N, revelou que mais de 85% do N se encontravam na forma amoniacal (Figura 2.3C). O tratamento com 5% de N-ureia mostrou aumento linear da concentração de amônio em solução durante o tempo de incubação, tendo, nas últimas duas avaliações, ocorrido uma pequena redução do % de N-amoniacal. Esses resultados sugerem que para se evitar perdas de N-amônio, as soluções de ureia associada com ácidos húmicos devem ser mais concentradas na fonte amídica, principalmente nas concentrações de 15% a 20% de N, o que pode reduzir as perdas por volatilização de NH<sub>3</sub>.

Considerando a variação de pH das amostras incubadas ao longo do tempo (Figura 2.3D), estas acompanharam o resultado de hidrólise da ureia conforme apresentado anteriormente; quando houve hidrólise, ocorreu elevação do pH. Observou-se que as amostras com SH de turfa e quando se adicionou ureia houve elevação de pH já no primeiro dia depois de estabelecidas as misturas. Esse aumento de pH indica que ocorreu a hidrólise da ureia, transformando ureia em amônio, e ocorreu o consumo de prótons ( $H^+$ ) do meio, elevando assim o pH da solução (CANTARELLA, 2007; WITTE, 2011). Logo após o primeiro dia da mistura ocorreu a estabilização do pH em torno de 9,3 que é o pKa de equilíbrio da reação na temperatura de 25°C:  $NH_4^+ + OH^- \rightleftharpoons NH_3 + H_2O$ . Desta forma quando o  $pH=pKa$  significa que de todo o N-amoniaco na solução, 50% está na forma de íon amônio e os outros 50% como amônia gás em solução (CANTARELLA, 2007; ROSE et al., 2014). Com isso, caso ocorra evaporação de água, associada às altas temperaturas e vento, condições favoráveis às perdas de N do gás amônia ( $NH_3$ ), seja em solução ou no solo, que pode ser volatilizado por arraste de vapor de água e interfere no equilíbrio da equação, reduzindo o teor de N da solução (CANTARELLA et al., 2008).

#### **2.3.4 Volatilização de $NH_3$**

A volatilização de  $NH_3$  das fontes foi mais significativa entre o 2º daa (dias após a adubação) até ao 9º daa (Figura 2.4). A ureia tratada com o inibidor de urease (NBPT) mostrou as menores taxas de volatilização, com máximos de perdas médias de  $30 \text{ mg parcela}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  (Figura 2.4).

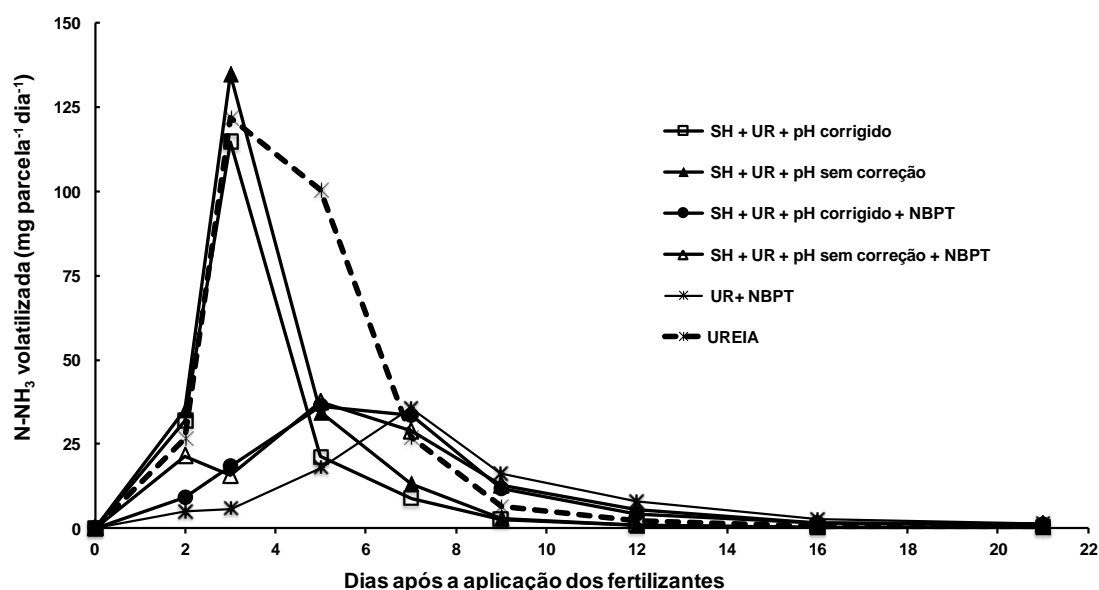


Figura 2.4 - Taxa diária de N-NH<sub>3</sub> volatilizada pela aplicação de fertilizantes nitrogenados em palhada de cana-de-açúcar. Os tratamentos com pH ajustado correspondem ao pH=7.0 e sem ajuste ao pH=9.0

Nos tratamentos sem inibidor de urease, no mesmo intervalo de tempo, ocorreram as maiores taxas, com máximos médios variando de 110 a 135 mg parcela<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, para os tratamentos SH+ UREIA + pH sem correção e ureia, respectivamente (Figura 2.4). Aos 5 dias após aplicação de ureia manteve alta taxa, enquanto os tratamentos com SH apresentaram redução expressiva na taxa de NH<sub>3</sub> (Figura 2.4). Essa redução nas perdas, na terceira amostragem, nos tratamentos contendo SH é explicada pelo seu poder de tamponamento que reduz a perda de amônia, ou por complexar o N-amônio em suas estruturas químicas, compostas de cadeias carboxílicas e fenólicas (DONG et al., 2009).

A volatilização de N-NH<sub>3</sub> acumulada em 21 dias após a aplicação dos fertilizantes (Figura 2.5), variou entre 465 e 213 mg parcela<sup>-1</sup> de N-NH<sub>3</sub>, nos tratamentos com ureia e ureia+NBPT, respectivamente. Houve redução em torno de 50% na perda quando foi utilizado o NBPT ou a correção do pH da solução com SH+ureia. O inibidor de urease (NBPT) retardou a hidrólise da ureia (Figuras 2.4 e 2.5) e contribuiu para redução das perdas de amônia por volatilização, mesmo em solução com SH, sem a correção do pH. Resultados semelhantes foram encontrados por Cantarella et al. (2008) que observaram redução na hidrólise da ureia com o uso de NBPT.

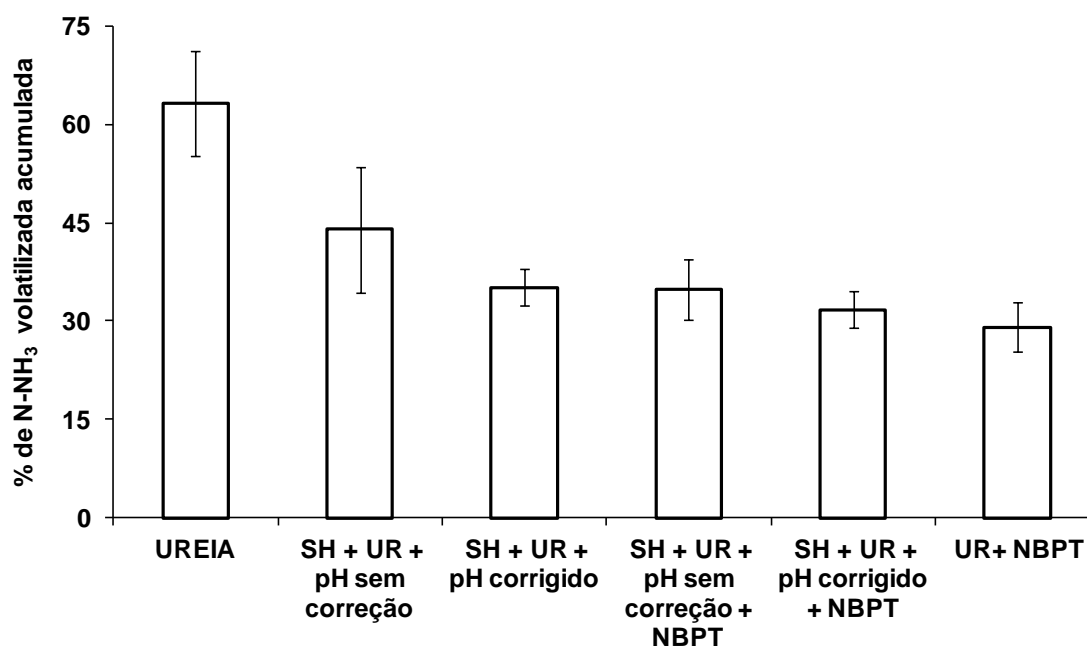


Figura 2.5 - Percentagem de N-NH<sub>3</sub> volatilizada acumulada proveniente da aplicação de fertilizantes nitrogenados em palhada de cana-de-açúcar e estimado pelo coletor. As barras verticais indicam erro padrão das médias para n = 4. Os tratamentos com pH corrigido correspondem ao pH=7.0 e sem correção ao pH=9.0

O tratamento com a correção do pH da solução + SH + ureia resultou em maior redução na volatilização de NH<sub>3</sub> comparado aos tratamentos em que não houve o ajuste do pH (Figura 2.5). A volatilização de N-NH<sub>3</sub> diminuiu com o ajuste do pH, favorecida pela protonação do NH<sub>3</sub> em NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, ficando, nessa forma, retido no solo, resultando em menores perdas. Quando não houve o ajuste do pH a proporção do N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> foi menor, favorecendo o balanço para N-NH<sub>3</sub> e maior foi o potencial de volatilização.

Considerando as perdas de N-NH<sub>3</sub> volatilizada acumulada, foram encontrados valores altos entre 30% a 65% do N aplicado (Figura 2.5). Essas altas perdas de N quando comparadas com as encontradas na literatura, são devido à elevada umidade do solo mantida durante todo o período experimental. A umidade foi corrigida para 60% da capacidade máxima de retenção de água no solo e criou condições favoráveis para a perda de NH<sub>3</sub> (CANTARELLA et al., 2008). A maior perda total acumulada de N-NH<sub>3</sub> ocorreu com ureia fertilizante aplicada sobre a palhada, chegando-se a mais de 65% do N aplicado. Para as perdas observadas nos tratamentos com aplicação da ureia com inibidor de urease + SH e ureia + SH + com correção do pH foram de aproximadamente 30% do total de N aplicado (Figura

2.6).

No tratamento com ureia + SH sem a correção do pH houve aumento da volatilização, sendo maior que os tratamentos com NBPT e quando se ajustou o pH. Por outro lado, a perda de amônia da solução de ureia + SH sem a correção de pH manteve-se menor que a ureia fertilizante. Isto ocorreu pelo fato de o N estar em solução com SH, favorecendo a permeabilidade da solução na palhada. As SH têm ainda a capacidade de aprisionar esse N nas suas estruturas químicas pelo poder tampão ou atenuar a atividade da enzima urease, responsável pela hidrólise da ureia (DONG et al., 2009; ROSE et al., 2014).

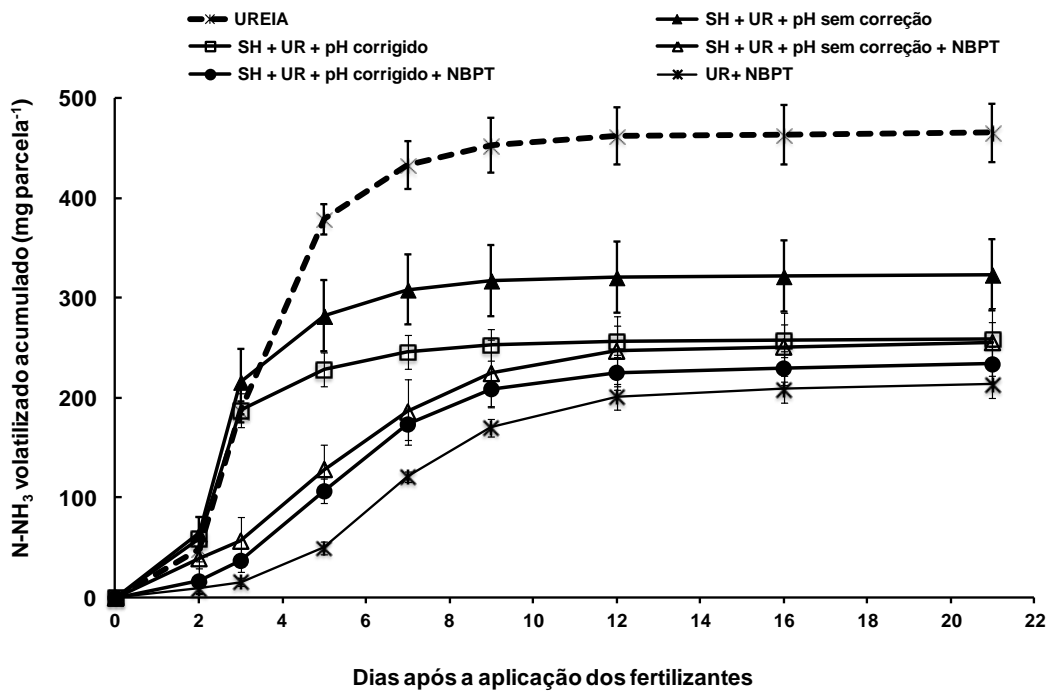


Figura 2.6 - Perda acumulada de N-NH<sub>3</sub> pela aplicação de fertilizantes nitrogenados em palhada de cana-de-açúcar e estimada pelo coletor. Os tratamentos com pH ajustado correspondem ao pH=7,0 e sem ajuste ao pH=9,0. As barras verticais indicam erro padrão da média para n = 4

## 2.4 Conclusão

As substâncias húmicas (SH) apresentam capacidade tamponante na faixa de pH de 5 a 9. As amostras comerciais de SH extraídas de turfa e leonardita apresentam maior poder tampão devido à maior concentração de AH e AF em relação às amostras extraídas em laboratório. Para estudos futuros é recomendável o processo de purificação dos AH para estimar com maior precisão o poder tampão, considerando que os extratores usados na extração (KOH, NaOH e HCl) podem interferir na determinação da capacidade tamponante. As SH provenientes de leonardita têm capacidade de manter o N na forma amídica, por não conterem a enzima urease. A adição de altas concentrações de N na forma de ureia nas SH promove diminuição do conteúdo de N amônio na solução. O uso de SH com pH corrigido (pH=7) possibilita redução de perdas de N-NH<sub>3</sub> por volatilização. A ureia com inibidor de urease NBPT reduz os máximos de volatilização e a volatilização acumulada total. O uso de inibidor e a solução de SH + ureia com pH corrigido (pH=7) proporcionam redução de 50% do total de N volatilizado. Com os resultados desses experimentos pode-se concluir que a melhor mistura da solução de SH+ureia é a de 15% de N, uma vez que além de conter quantidades expressivas de N em solução (15% de N), todo o N fica totalmente em forma solúvel.

## Referências

AHMED, O.H.; AMINUDDIN, H.; HUSNI, M.H.A. Reducing ammonia loss from urea and improving soil-exchangeable ammonium retention through mixing triple superphosphate, humic acid and zeolite. **Soil Use and Management**, Cambridge, v. 22, p. 315-319, 2006.

BARROS, M.C.P.; PAULA, J.R.; REZENDE, M.O.O.; Caracterização físico-química do ácido húmico de solo da ilha de Cananéia e de sua interação com Fe (III), Cu (II) e Cd (II). **Química Nova**, São Paulo, v. 17, n. 5, p. 376-380, 1994.

CAMPOS, S.X.; AZEVEDO, E.R.; BONAGAMBA, T.J.; VIEIRA, E.M., BERNARDO, L.D. Color removal by coagulation, flocculation and sedimentation from water containing humic substances with different apparent molecular sizes. **Journal of water: Research and Technology**, New York, v. 56, p. 327-333, 2007.

CANELLAS, L.P.; SANTOS, G.A. **Humosfera**: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas. Campos dos Goytacazes: Editora UENF, 2005. 309 p.

CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.O.; OLIVARES, F.L.; FAÇANHA, A.R. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. **Plant Physiology**, London, v. 130, p. 1951-1957, 2002.

CANELLAS, L.P.; ZANDONADI, D.B.; OLIVARES, F.L.; FAÇANHA, A.R. Efeitos fisiológicos de substâncias húmicas: o estímulo às H<sup>+</sup>-ATPases. In: FERNANDES, M.S. (Org.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. v. 1, p. 175-195.

CANELLAS, L.P.; PICCOLO, A.; DOBBSS, L.B.; SPACCINI, R., OLIVARES, F.L.; ZANDONADI, D.B.; FACANHA, A.R. Chemical composition and bioactivity properties of size fractions separated from a vermicompost humic acid. **Chemosphere**, Oxford, v. 78, p. 457-466, 2010.

CANELLAS, L.P.; MARTÍNEZ, B.D.; MÉDICI, L.O.; AGUIAR, N.O.; CAMPOSTRINI, E.; ROSA, R.C.; FAÇANHA, A.; OLIVARES, F.L. A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 66, p. 119-132, 2012.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375-470.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O. Determinação de nitrogênio inorgânico em solo pelo método de destilação a vapor. In: RAI, B. van; ANDRADE, J.C. de; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Org.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001a. p. 270-276.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O. Determinação de nitrogênio total em solo. In: RAI, B. van; ANDRADE, J.C. de; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Org.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001b. v. 1, p. 262-269.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O.; CONTIN, T.L.M.; DIAS, F.L.F.; ROSSETTO, R.; MARCELINO, R.; COIMBRA, R.B.; QUAGGIO, J.A. Ammonia volatilisation from urease inhibitor-treated urea applied to sugarcane trash blankets. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, p. 397-401, 2008.

ÇELIK, H.; KATKAT; A.V.; AŞIK B.B.; TURAN, M.A.; 2010. Effect of foliar-applied humic acid to dry weight and mineral nutrient uptake of maize under calcareous soil conditions. **Communications Soil Science Plant Analysis**, New York, v. 42, p. 29-38, 2010.

DOBBSS, L.B.; CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L.; AGUIAR, N.O.; PERES, L.E.P.; AZEVEDO, M.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A.; FAÇANHA, A.R. Bioactivity of chemically transformed humic matter from vermicompost on plant root growth.



**Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, p. 3681-3688, 2010.

DONG, L.; KREYLOS, A.L.; YANG, J.; YUANA, H.; SCOWB, K.M. Humic acids buffer the effects of urea on soil ammonia oxidizers and potential nitrification. **Soil Biology Biochemistry**, Oxford, v. 4, p. 1612-1621, 2009.

HALPERN, M.; BAR-TAL, A.; OFEK, M.; MINZ, D.; MÜLLER, T.; YERMIYAHU U. The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 130, p. 141-174, 2014.

INTERNATIONAL HUMIC SUBSTANCE SOCIETY. Disponível em: <<http://www.humicsubstances.org/>>. Acesso em: 20 set. 2015.

KASIM, S.; AHMED, O.H.; MAJID, N.M.A.; YUSOP, M.K.; JALLOH, M.B. Reduction of ammonia loss by mixing urea with liquid humic and fulvic acids isolated from tropical peat soil. **American Journal Agricultural Biology Science**, New York, v. 4, p. 18-23, 2009.

KRAJEWSKA, B. Ureases I: functional, catalytic and kinetic properties; a review, **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 59, p. 9-21, 2009.

MORA, V.; BACAICOA, E.; ZAMARREÑO, A.M.; AGUIRRE, E.; GARNICA, M.; FUENTES, M.; GARCIA-MINA, J.M. Action of humic acid on promotion of cucumber shoot growth involves nitrate-related changes associated with the root-to-shoot distribution of cytokinins, polyamines and mineral nutrients. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 167, p. 633-642, 2010.

MUSCOLO, A.; SIDARI, M.; NARDI, S. Humic substance: relationship between structure and activity. Deeper information suggests univocal findings. **Journal Geochemical Exploration**, Amsterdam, v. 129, p. 57-63, 2013.

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A.; VIANELLO, A. Physiological effects of humic substances on higher plants, **Soil Biology Biochemistry**, Oxford, v. 34, p. 1527-1536, 2002.

PAIVA, D.M.; CANTARUTTI, R.B.; GUIMARAES, G.G.F.; SILVA, I.R. Volatilização de amônia da ureia revestida com carvão vegetal oxidado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, p. 1221-1230, 2012.

PERTUSATTI, J.; PRADO, A.G.S. Buffer capacity of humic acid: thermodynamic approach. **Journal of Colloid and Interface Science**, New York, v. 314, p. 484-489, 2007.

QUAGGIOTTI, S.; RUPERT, B.; PIZZEGHELLO, D.; FRANCIOSO, O.; TUGNOLI, V.; NARDI, S. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 803-813, 2004.

REIS, B.F.; VIEIRA, J.A.; KRUG, F.J.; GINÉ, M. Development of a flow injections system two analytical paths for ammonium determination in soil extracts by conductometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 8, p. 524-528, 1997.

ROSE, M.T.; PATTI, A.F.; LITTLE, K.R.; BROWN, A.L.; JACKSON, W.R.; CAVAGNARO, T.R. A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 124, p. 37-89, 2014.

SANCHES, S.M.; CAMPOS, S.X.; VIEIRA, E.M. Caracterização das frações das substâncias húmicas de diferentes tamanhos moleculares. **Eclética Química**, Araraquara, v. 32, p. 49-56, 2007.

STEVENSON, F.J. **Humus chemistry: genesis, composition, reactions**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: John Wiley, 1994. 496 p.

SUTTON, R.; SPOSITO, G. Molecular structure in soil humic substances: the new view. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 39, p. 9009-9015, 2005.

WITTE, C.P. Urea metabolism in plants. **Plant Science**, Amsterdam, v. 180, p. 431-438, 2011.

ZANDONADI, D.B.; CANELLAS L.P.; FAÇANHA, A.R.; Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H<sup>+</sup> pumps activation. **Planta**, New York, v. 225, p. 1583-1595, 2007.

### 3 PRODUTIVIDADE E PARÂMETROS TECNOLÓGICOS DE CANA-DE-AÇÚCAR ADUBADAS COM SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E/OU UREIA

#### Resumo

A fertilização de soqueiras de cana-de-açúcar com ureia aplicada em superfície, especialmente se o solo estiver coberto com camada de palha resulta em grandes perdas por volatilização de  $\text{NH}_3$ , o que diminui a eficiência do uso de N (EUN) e a produtividade da cultura. O uso de substâncias húmicas (SH) em misturas com ureia pode aumentar a EUN, e também melhorar a produtividade da cultura quando aplicadas em cana-soca. Objetivou-se com este estudo investigar a aplicação de doses de ureia e doses de SH para otimizar concomitantemente EUN (expressa como fator de produtividade parcial,  $\text{FPP}_{\text{TCH}}$ ) e produtividade da cana-soca. Foram instalados experimentos em três experimentos (dois solos) do município de Severínia, SP, Brasil. O experimento foi avaliado em delineamento em blocos casualizados com 4 repetições. Os tratamentos foram doses de SH: 0, 100, 200, 300 e 400  $\text{L ha}^{-1}$ , doses de N-ureia: 0, 25, 50, 75, 100  $\text{kg ha}^{-1}$  de N e algumas combinações destas misturas. Em geral, os fertilizantes nitrogenados aumentaram a produtividade de colmos e o rendimento de açúcar. No entanto, o açúcar total recuperável, expresso em ATR foi reduzido de 167  $\text{kg Mg}^{-1}$  nas doses das misturas de 50  $\text{kg N ha}^{-1}$  + 200  $\text{L ha}^{-1}$  de SH para 158  $\text{kg Mg}^{-1}$  nas doses de 100  $\text{kg N ha}^{-1}$  e 400  $\text{L ha}^{-1}$  de SH. Considerando somente doses de N-ureia 100  $\text{kg N ha}^{-1}$ , a aplicação de N aumentou 5% do ATR.  $\text{FPP}_{\text{TCH}}$  máxima foi obtida com doses baixas da mistura ureia + SH, 25  $\text{kg N ha}^{-1}$  + 100  $\text{L ha}^{-1}$ , respectivamente. Dessa maneira, a mistura de ureia+SH promoveu aumento de produtividade de cana-de-açúcar em comparação somente com doses de ureia. Portanto, a mistura ureia+SH melhorou simultaneamente a produção de cana-de-açúcar e a EUN. Porém, mais estudos são necessários para compreender plenamente os mecanismos fisiológicos que promoveram alterações de crescimento e de acúmulo de açúcar na planta quando SH são aplicadas em conjunto com a ureia.

Palavras-chave: Fertilizante nitrogenado; Ácidos fúlvicos; Ácido húmico; Eficiência do uso de nitrogênio; Açúcar total recuperável

#### Abstract

Fertilizer nitrogen applied as urea on sugarcane (*Saccharum* spp.) ratoon may exhibit high  $\text{NH}_3$  losses by volatilization, decreasing N use efficiency (NUE) and yield. The use of humic substances (HS) in combination with fertilizer N, urea, can increase NUE, and can also improve productivity when applied in sugarcane ratoon. The goal of this study was to investigate the use of combined or single urea and HS for concomitantly improving NUE (expressed as partial factor productivity,  $\text{PFP}_{\text{TCH}}$ ,

cane yield to fertilizer applied ratio) and sugarcane ratoon productivity. Three site-years were established on two tropical soils, state of São Paulo, Brazil. Factors evaluated in a randomized complete block design were HS rates: 0, 100, 200, 300, and 400 L ha<sup>-1</sup>, fertilizer urea-N rates: 0, 25, 50, 75, and 100 kg N ha<sup>-1</sup> and selected urea plus HS combinations: urea+HS. Overall, N sources increased sugarcane stalk yield and sugar productivity. However, total recoverable sucrose, expressed as TRS in stalks, declined from 167 for urea2+HS2 (50 kg N ha<sup>-1</sup>+200 L ha<sup>-1</sup>) to 158 kg Mg<sup>-1</sup> for urea4+HS4 (100 kg N ha<sup>-1</sup>+400 L ha<sup>-1</sup>); whereas single urea4, 100 kg N ha<sup>-1</sup>, application increased 5% of TRS. Maximum PFP<sub>TCH</sub> was obtained with low rates of the mixture urea+HS, 25 kg N ha<sup>-1</sup> + 200 L ha<sup>-1</sup>, respectively. Overall, combined urea+HS application improved sugarcane yield and sugar productivity compared to urea alone. Therefore, combined urea+HS application simultaneously improved sugarcane production and NUE. Further studies are needed to fully understand the physiological mechanisms governing plant growth changes when HS are jointly applied with urea

Keywords: Fertilizer N; Fulvic acid; Humic acid; Nitrogen use efficiency; Total recoverable sugar

### 3.1 Introdução

A cana-de-açúcar, no Brasil, é cultivada em aproximadamente 9 milhões de hectares e cerca de 70% dessa área são colhidas por mecanização sem queima da palha. No estado de São Paulo, a cana-de-açúcar é cultivada em 4,7 milhões de ha, e 85%, foram substituídos de colheita manual por mecanizada sem queima de resíduos (CONAB, 2015). Essa prática resulta na deposição de palha (folhas secas) e ponteiros (folhas verdes) na superfície do solo. Após a colheita, a massa seca de palha (incluindo caules, folhas e partes superiores) pode variar entre 10 e 20 Mg ha<sup>-1</sup>. A quantidade de nitrogênio (N) na palha pode variar de 30 a 80 kg ha<sup>-1</sup> de N e a relação C:N é de cerca de 100:1 (FORTES et al., 2013; TRIVELIN et al., 2013). A palha recobrando a superfície dos solos canavieiros apresenta vários benefícios, dentre eles: a) aumenta os estoques de C (GALDOS et al., 2009), b) melhorar a ciclagem de nutrientes (TRIVELIN et al., 2013), c) reduz as emissões de gases com efeito de estufa -GGE- (GALDOS et al., 2013), e d) aumenta a produtividade de colmos (GAVA et al., 2001). O principal desafio neste sistema são as práticas do manejo de nutrientes, especificamente relacionadas com N. Vários pesquisadores têm estudado o efeito da dinâmica do N na palha de cana-de-açúcar (VITTI et al., 2007; TRIVELIN et al., 2013; FORTES et al., 2013), concluindo que uma razão C:N

acima de 30 unidades promove a imobilização do N (TRIVELIN et al., 2013). As aplicações de ureia no solo vão promover perdas de N via volatilização quando se aumenta a quantidade de resíduos (COSTA et al., 2003; CANTARELLA et al., 2008; MARIANO et al., 2012). Ainda, a aplicação de ureia sobre a palha pode resultar em perdas elevadas de N como amônia, reduzindo a eficiência do uso do nutriente (EUN) pela cultura e, com isso, limitando a produtividade da cana-de-açúcar (CANTARELLA et al., 2008).

No Brasil, mais de 75% dos fertilizantes nitrogenados (FN) são importados. A ureia é a forma mais difundida de FN utilizado devido ao seu alto teor de N (44% a 46% m / m), à alta disponibilidade e ao baixo custo, em comparação com outras fontes. Estudos usando  $^{15}\text{N}$  como traçador na cana-de-açúcar confirmaram a baixa recuperação do N pela cana planta (PRASERTSAK et al., 2002; BASANTA et al., 2003; VITTI et al., 2007; FRANCO et al., 2011). De acordo com Franco et al. (2011), durante as fases iniciais da cana-de-açúcar, o N-fertilizante é a principal fonte do nutriente à cultura, o que representa mais de 70% do N extraído pelas plantas. No entanto, a cana-de-açúcar é uma cultura semi-perene, permanecendo no campo por pelo menos 12 meses. A recuperação do N fertilizante diminui ao longo do ciclo e, no momento da colheita, atinge valores que variam de 5% a 35% para a cana-soca (PRASERTSAK et al., 2002; FRANCO et al., 2011.).

Substâncias húmicas (SH) compõem a parte mais importante da matéria orgânica, e sua importância nas propriedades do solo é bem conhecida (STEVENSON, 1982; ROSE et al., 2014). Além disso, as SH podem afetar o crescimento das raízes (NARDI et al., 2007; LAZZARINI, 2014), a emergência de raízes laterais (CANELLAS et al., 2002), a absorção de nutrientes (ÇELIK et al., 2010), a biomassa da parte aérea (VALDRIGHI et al., 1996), e a produtividade de grãos (CANELLAS et al., 2012). O uso de SH vem aumentando ao redor do mundo (ROSE et al., 2014). Estas substâncias podem ser extraídas de várias fontes, incluindo solos (NARDI et al., 2000; ZANDONADI et al., 2007), turfa (KASIM et al., 2009), vermi-compostos e esterco de bovinos (CANELLAS et al., 2012), leonardita (PEIRIS et al., 2002), e lignito (DONG et al., 2009).

Várias estratégias para aumentar a EUN vêm sendo propostas, incluindo: parcelamento e melhor época de aplicação, fontes alternativas, e diferentes métodos de fornecimento do nutriente (CANTARELLA et al, 2008; DAWAR et al, 2011.). Em estudos fisiológicos foi demonstrado que as aplicações de SH estimulam a absorção

de nitrato em milho (QUAGGIOTTI et al., 2004). O uso de SH em misturas com ureia pode não só aumentar EUN, mas também elevar a produtividade quando aplicado na cultura da cana-de-açúcar. Assim, a melhoria da eficiência de recuperação N, pode conseqüentemente resultar em menor utilização de N-fertilizantes; mantendo ao mesmo tempo a produtividade das culturas. Objetivou-se com este estudo investigar o uso de ureia, SH e a combinação de ambas, UREIA+SH, para melhorar simultaneamente EUN e a produtividade de cana-de-açúcar.

### **3.2 Material e Métodos**

#### **3.2.1 Áreas experimentais**

Três estudos de campo foram realizados no estado de São Paulo, Brasil (20° 46 'S; 48° 45' W). Dois locais foram cultivados em cana-de-açúcar de primeira-soca em 2012/2013 e outro local foi na safra seguinte, em 2013/2014, com uma segunda-soca. O experimento para a segunda soqueira foi realizado na mesma área. Na implantação das áreas procedeu-se ao preparo convencional do solo (aração e gradagem), calagem e gessagem foram realizadas a cada seis anos.

Antes do início do estudo de campo, amostras de solo para a caracterização química e física do solo foram coletadas em um intervalo de profundidade do solo de 20 cm de 0 até 100 cm no perfil do solo (Tabela 3.1). A variedade de cana-de-açúcar plantada, RB855453, caracteriza-se como material de ciclo precoce com alta demanda de nutrientes e água. A população final de colmos foi de aproximadamente 80.000-85.000 plantas por hectare, valor comum para canaviais que produzem cana-de-açúcar no Estado de São Paulo, Brasil e espaçamento de 1,5 m entre fileiras.

A colheita da cana-planta foi realizada mecanicamente sem queima em julho de 2012. Em ambos os locais, a produção da cana-planta foi de aproximadamente 145 Mg ha<sup>-1</sup> de colmos. A produção de matéria seca de palha variou de 18,2 ± 3,1 Mg ha<sup>-1</sup> para o LATOSSOLO VERMELHO distrófico (LV) e 21,5 ± 2,04 Mg ha<sup>-1</sup> para o ARGISSOLO VERMELHO AMARELO (AVA). No terceiro local, a massa seca de palha foi de 15,4 ± 2,54 Mg ha<sup>-1</sup> para o LATOSSOLO VERMELHO distrófico (LV) no segundo ciclo da cultura. Um total de 12 amostras (1 m<sup>2</sup> cada) foi coletado aleatoriamente na área total para determinar a produção de matéria seca de palhada e submetidos à secagem a 65 °C.

### 3.2.2 Delineamento experimental e misturas de fertilizantes

As SH foram extraídas e purificadas como descrito por Canellas et al. (2002). Uma mudança foi introduzida para o processo de extração das SH utilizado antes do experimento. Resumidamente, SH foram extraídas a partir de turfa com 0,2 M KOH, na proporção de 1:5 sólido-líquido por agitação mecânica durante 6 horas; o sobrenadante separado foi acidificado a pH 6,5, com solução de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 2 mol/L e usado para aplicação nas áreas experimentais. Para fins de avaliar a composição e a caracterização de SH, a suspensão foi centrifugada a 5000 g e filtrada através de um filtro Whatman nº 42 para se obter o humato (mistura de ácidos fúlvicos e húmicos). Foi realizada a diálise do humato em água deionizada usando uma membrana 1000-Da. O humato obtido apresentou as seguintes características, conforme Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas- (STEVENSON, 1982): o valor de N total foi de 11 g kg<sup>-1</sup> (Kjeldahl), fósforo (P) 1,6 g kg<sup>-1</sup> (colorimetria), potássio (K) 5,4 g kg<sup>-1</sup> (fotometria de chama), todos os nutrientes determinados seguindo Raij et al. (2001), e teor de cinzas foi de 2,2% por peso base seca (SANCHES et al., 2007).

Tabela 3.1 - Propriedades físico-químicas dos solos cultivados com soqueiras de cana-de-açúcar colhidas sem queimas no estado de São Paulo

Solo†	Prof. cm	pH	COS‡	P§	K§	Ca§	Mg§	Al¶	H+Al¶	CTC#	SB††	areia‡‡	silte‡‡	arg.‡‡	Θ <sub>cc</sub> §§	Tp£	Ds <sup>F</sup>
		CaCl <sub>2</sub>	g dm <sup>-3</sup>	mg <sup>-1</sup>	mmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>			mmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>		%	g kg <sup>-1</sup>			m m <sup>-3</sup>	kg m <sup>-3</sup>		
<b>Local 1- Primeira soqueira</b>																	
LATOSSOLO VEMELHO (LV)	0-20	5,4	9,1	28	3,0	18	9	1	19	49,3	61	678	24	299	0,229	0,35	1,73
	20-40	5,3	6,8	33	1,4	15	9	3	22	46,8	54	754	20	226	0,247	0,39	1,62
	40-60	5,2	5,2	3	1,0	13	10	2	17	41,4	58	718	31	252	0,236	0,46	1,44
	60-80	5,2	4,6	2	0,8	14	10	1	14	39,0	64	649	54	298	0,240	0,51	1,32
	80-100	5,2	4,0	2	0,8	12	11	1	10	33,0	71	644	82	275	0,239	0,53	1,26
<b>Local 2- Primeira soqueira</b>																	
ARGISSOLO VERMELHO AMARELO (AVA)	0-20	4,8	5,2	19	1,3	23	9	1	14	47,3	71	771	54	176	0,213	0,32	1,80
	20-40	5,2	5,2	4	0,8	30	12	0	12	54,6	78	727	48	225	0,213	0,35	1,73
	40-60	5,4	4,6	3	0,7	29	13	0	12	54,9	78	660	37	303	0,231	0,42	1,56
	60-80	5,4	3,5	3	0,7	32	13	0	8	53,1	85	620	53	327	0,250	0,48	1,39
	80-100	5,5	2,9	2	0,7	30	10	0	9	49,4	82	625	25	350	0,245	0,48	1,40
<b>Local 3- Segunda soqueira</b>																	
LATOSSOLO VEMELHO (LV)	0-20	5,3	9,5	35	3,7	22	9	1	18	53,7	60	-	-	-	-	-	-
	20-40	5,2	6,7	25	1,4	14	9	1	22	47,4	53	-	-	-	-	-	-

† Classificação do solo (EMBRAPA, 2006).

‡ Carbono orgânico do solo, mensurado pelo método Walkey-Black (Raij et al., 2001).

§ P, K, Ca and Mg: extraídos por resina de troca iônica (Cantarella et al., 1998).

¶ Acidez potencial, Al extraído com 1 N KCl (Raij et al., 2001) e H +Al usando solução tampão SMP (Quaggio et al., 1985).

# Capacidade de troca de cátions pH 7.0.

†† Saturação de Bases

‡‡ Análise textural usando o método do hidrômetro (Gee and Bauder 1986).

§§ Umidade do solo. Amostras de solos indeformadas coletadas e determinadas pelo método de Dane e Hopmans (2002).

£ Porosidade total. Amostras de solos indeformadas coletadas e determinadas pelo método de Dane e Hopmans (2002).

F Densidade do solo. Amostras de solos indeformadas coletadas e determinadas pelo método de Dane e Hopmans (2002).



Em todos os experimentos, o delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com cinco repetições. As parcelas foram de 120 m<sup>2</sup> (10 x 12 m), com oito linhas de cana de 10 m de comprimento e 1,5 m de espaçamento entre as linhas. Dois fatores foram avaliados neste experimento, a aplicação de fertilizante nitrogenado (ureia fertilizante) e SH. Cinco doses de N fertilizantes foram avaliadas: 0, 25, 50, 75 e 100 kg N ha<sup>-1</sup>. Para o fator SH, cinco níveis foram investigados neste estudo: 0, 100, 200, 300 e 400 L ha<sup>-1</sup>. Nem todas as combinações de tratamento foram avaliadas (como um desenho fatorial), mas apenas interações específicas entre ureia por SH (UREIA1+SH1 até UREIA4+SH4 na Tabela 3.2). O produto final após a mistura ureia + SH foram os seguintes: 151,5 mg g<sup>-1</sup> de N, pH 7,5; densidade 1,15 g mL<sup>-1</sup> e 30 g L<sup>-1</sup> de TOC (Orgânico Total Método dicromato-Bremner e Jenkinson, 1960). Um tratamento controle (sem N) também foi incluído.

Tabela 3.2 - Descrição dos tratamentos e das doses de fertilizante ureia associadas com substâncias húmicas (SH) em soqueira cana-de-açúcar

Tratamentos	Doses de N fertilizantes (kg ha <sup>-1</sup> )	Doses de substâncias húmicas (L ha <sup>-1</sup> )	Forma de aplicação
UREIA0	0	0	-
UREIA1	25	0	20 cm ao lado da linha
UREIA2	50	0	20 cm ao lado da linha
UREIA3	75	0	20 cm ao lado da linha
UREIA4	100	0	20 cm ao lado da linha
SH0	0	0	-
SH1	0	100	Foliar (linha da cana)
SH2	0	200	Foliar (linha da cana)
SH3	0	300	Foliar (linha da cana)
SH4	0	400	Foliar (linha da cana)
UREIA0+SH0	0	0	-
UREIA1+SH1*	25	100	Foliar (linha da cana)
UREIA2+SH2*	50	200	Foliar (linha da cana)
UREIA3+SH3*	75	300	Foliar (linha da cana)
UREIA4+SH4*	100	400	Foliar (linha da cana)

\* As doses de N foram aplicadas com doses de SH, para otimizar a aplicação de fertilizantes, foi feita uma solução / mistura de SH com ureia + 15% N nos 12-15 tratamentos.

Fez-se a calagem ( $1 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) e aplicou-se potássio (K), como cloreto de potássio ( $90 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{O}$ ). Fertilizantes P e K e doses de calcário foram baseadas em recomendações fornecidas pelo Spironello et al. (1997), que são comumente usados nos canaviais do Estado de São Paulo (Brasil). Em tratamentos com ureia, fertilizantes foram aplicados manualmente em cima da palhada da colheita anterior (20 cm de distância da linha de plantio). As SH foram aplicadas com o auxílio de um tanque de  $\text{CO}_2$ , mantendo um fluxo constante. A aplicação de fertilizantes ocorreu de 90 a 120 dias após a colheita (DAC) da cana-planta em primeiro ciclo soqueira (2012/2013), quando as plantas já apresentavam de 30 a 40 cm de altura. Os mesmos tratamentos, nos mesmo local (parcelas), e doses de aplicação foram repetidos no segundo ciclo de soqueira, 130 DAC (terceiro local).

### 3.2.3 Avaliações

A produtividade de colmos foi obtida por colheita manual em agosto de 2013 (primeira soqueira) para ambos os locais e em junho de 2014 (segunda-soca) para o último local. Todos os colmos das quatro linhas centrais ( $6 \times 10 \text{ m}$ , aproximadamente 400-500 plantas), foram colhidos em todas as parcelas por colheita manual e massa de colmos foram aferidas com uma balança (2 t) acopladas ao trator agrícola determinando a produtividade (TCH-toneladas de colmo por hectare) . No restante das linhas de cada parcela os colmos foram colhidos mecanicamente e removidos do local para o crescimento da cana-de-açúcar para a próxima safra.

Um total de 10 colmos foi colhido de cada parcela para a avaliação dos parâmetros tecnológicos (laboratório da Usina Cruz Alta-Guarani, localizada em Olímpia, SP, Brasil). Resumidamente, colmos foram triturados e homogeneizados para extração do caldo de cana original por prensa hidráulica. O teor de sólidos solúveis (Brix) e teor de sacarose aparente (Pol) foram determinados (SCHNEIDER, 1979). O rendimento de açúcar total por hectare (ATH) foi obtido multiplicando-se a produtividade da cultura (TCH) pela quantidade de açúcar (sacarose%) contida na matéria-prima. A qualidade industrial (ATR e fibras%) foi analisada utilizando um Near Infrared Sistema Spectracane (Bruker Corporation, Billerica, MA, EUA), seguindo os procedimentos descritos pelo Centro de Tecnologia Canavieira - CTC (2005). Durante todo período experimental, os dados meteorológicos (precipitação diária, temperaturas mínimas e máximas do ar) foram coletados em estação

meteorológica automática instalada na proximidade dos sítios experimentais (Figura 3.1).

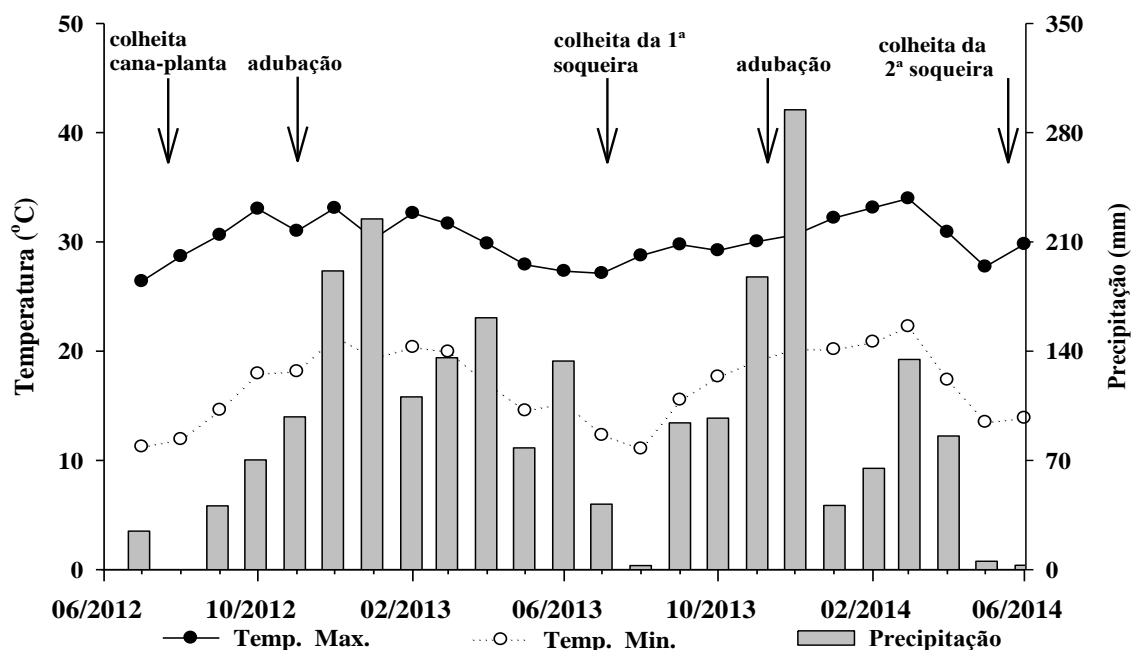


Figura 3.1 - Precipitação mensal e média mínima mensal e temperaturas máximas do ar durante o experimento realizado no solo LATOSSOLO VERMELHO amarelo (primeiro e segundo ciclos soca) e no ARGISSOLO VERMELHO amarelo (primeiro ciclo soca)

A eficiência de uso de nitrogênio (EUN) foi estimada por meio do cálculo do fator parcial de produtividade (FPP, relação entre produtividade e doses de N) para dois parâmetros: FPP para a produtividade de colmos (TCH) na colheita final ( $FPP_{TCH}$ ) e o teor de açúcar final ( $FPP_{ATH}$ ), para a relação da taxa N de fertilizantes de acordo com Ciampitti e Vyn (2012), sendo utilizada a seguinte equação para o cálculo EUN:

$$FPP = \frac{(P_{fert} - P_{controle})}{Dose\ de\ N\ aplicada} \quad (1)$$

em que  $P_{fert}$  é o rendimento da cana por hectare (TCH em  $Mg\ ha^{-1}$ ) ou o rendimento do açúcar por hectare (ATH em  $Mg\ ha^{-1}$ ) de tratamentos que receberam ureia ou ureia + SH fertilizantes;  $P_{controle}$  é a produtividade de cana por hectare (TCH em  $Mg\ ha^{-1}$ ) ou o rendimento do açúcar por hectare (ATH em  $Mg\ ha^{-1}$ ) do tratamento

controle, e a taxa de fertilizante nitrogenado aplicado ( $\text{kg ha}^{-1}$  de N) é a quantidade de N aplicada por meio de ureia ou fertilizantes ureia + SH.

### 3.2.4 Análises estatísticas

A análise de variância (ANOVA) para todos os parâmetros (TCH, TSH, Brix, fibra, TRS,  $\text{FPP}_{\text{TCH}}$  e  $\text{FPP}_{\text{ATH}}$ ) foi realizada utilizando-se o SAS PROC GLM (SAS INSTITUTE, 2004). A análise baseou-se nos principais fatores (ureia, SH e ureia + SH) como fonte de variação. Todas as variáveis foram consideradas fatores fixos. Para todos os dados, as variações entre locais foram comparadas para avaliar a homogeneidade das variâncias. Os desvios em todo locais foram heterogêneos, realizando-se a avaliação de cada local individual. Análises de regressão foram implementadas por meio da utilização do SAS PROC REG (SAS INSTITUTE, 2004). Análises de regressão para características de cana-de-açúcar (Figuras 3.2, 3.3 e 3.4) foram realizadas usando SigmaPlot versão 11.0 (Systat Software, Inc., San Jose, CA).

Foi utilizada a análise do teste F ( $P \leq 0,05$ ), e em caso de significância, foi realizado o teste t (LSD) ( $P \leq 0,05$ ). Para cada conjunto de dados descrito, a importância dos efeitos linear e quadrático para ureia, SH, e combinação (ureia + SH) foi determinada com o modelo de regressão e quando necessário foi realizado o desdobramento para cada fator. Quando o valor de P foi significativo ( $P < 0,05$ ) foi realizada análise de regressão polinomial linear e quadrática para todos os parâmetros (TSH, TSH, Brix, Fibra, e TRS) e níveis de tratamento utilizados para cada experimento.

### 3.3 Resultados e discussão

Durante o período experimental, a precipitação pluvial foi 1.310 mm para os locais 1 e 2 (primeira soca) e de 1.050 mm no local 3 (segunda-soca). Cerca de 70% da precipitação ocorreram durante a estação quente, a partir de setembro até março, para ambas soqueiras (Figura 3.1). A temperatura mínima média variou de 12 a 25 °C, em junho (o mês mais frio), enquanto a máxima oscilou entre 26 e 35°C, em janeiro (o mês mais quente) para todas as áreas experimentais. Em geral, as condições foram favoráveis para o crescimento e produtividade de colmos (Figura

3.1). As aplicações dos fertilizantes influenciaram significativamente em todos os parâmetros (Tabelas 3.3 e 3.4), mas a resposta foi distinta em cada local.

No LV (LATOSSOLO VERMELHO 1ª soca), os tratamentos não diferiram significativamente ( $P < 0,05$ ) para os parâmetros de ATH e TCH. No entanto, Brix e ATR foram significativamente influenciados pelos tratamentos; indicando efeito quadrático de doses de ureia linear para ureia+SH (Tabela 3.3). Os valores de Brix variaram de 21,5% a 23,0% para os tratamentos ureia 0 e 50 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. O valor de Brix diminuiu com o aumento das doses de N em misturas com SH (N+SH). Comportamento semelhante foi documentado para ATR, mas este parâmetro aumentou com a aplicação simples da ureia.

Na área 2 (ARGISSOLO VERMELHO AMARELO; 1ª soca), as doses de SH e ureia+SH afetaram significativamente a produtividade de colmos (TCH) e de açúcar (ATH) (Tabela 3.4 e Figura 3.3). Concentração de sacarose (ATR), Brix, e fibra não foram afetados pelo fator de tratamento. No entanto, a aplicação combinada de ureia + SH aumentou significativamente TCH (14%) e TSH (19%), com aumento significativo para a dose da mistura ureia + SH (75 kg ha<sup>-1</sup>) (Tabela 3.4 e Figura 3.3).

Aumento de produtividade com a aplicação SH já foi documentado em outras culturas como milho, feijão, trigo e tomate em ambiente controlado, bem como em condições de campo (ÇELIK et al., 2010; CANELLAS et al., 2012; MUSCOLO et al., 2013). Mecanismos fisiológicos associados para produzir mudanças induzidas pelo uso de SH estão relacionados com modificações na absorção de nutrientes (QUAGGIOTTI et al., 2004; ÇELIK et al., 2010; CANELLAS et al., 2014), morfologia do sistema radicular (CANELLAS et al., 2002) e atividade hormonal (CANELLAS et al., 2002; NARDI et al., 2002). Em cevada, a absorção de N foi otimizada com aplicação SH, aumentando a absorção de nitrato (63%) em relação à adubação nitrogenada com a mesma dose (Piccolo et al., 1992).

Tabela 3.3 - Graus de liberdade e valores de F para produtividade de colmos (TCH), açúcar total por hectare (ATH), brix (%), fibra (%) e açúcar total recuperável (ATR). Efeito Linear e quadrático das doses de fertilizante nitrogenado, SH, e combinação de ambas as fontes de N (ureia + SH) foram avaliados utilizando análise de regressão linear. Local 1 (LATOSSOLO VERMELHO DISTRÓFICO, 1ª soca); Local 2 (ARGISSOLO VERMELHO AMARELO; 1ª soca) e Local 3 (LATOSSOLO VERMELHO distrófico, 2ª soca)

Efeito	GL§	TCH	ATH	Brix	Fibra	ATR
Local 1						
Tratamentos	14	0,9 <sup>NS</sup>	0,6 <sup>NS</sup>	1,8**	1,6*	1,6*
Doses ureia linear	1	0,3	0,2	0,2	1,2	0,1
Doses ureia quadrática	2	0,5	0,8	4,8**	0,1	5,2**
Doses SH linear	1	0,1	0,3	1,1	0,1	1,3
Doses SH quadrática	2	0,1	0,5	0,1	0,7	0,3
Doses (UREIA+SH) linear	1	0,6	0,2	4,7**	0,1	2,8*
Doses (UREIA+SH) quadrática	2	0,1	0,1	4,4**	2,9*	6,6**
Doses ureia x doses SH	16	0,6	0,8	1,7*	0,7	1,1
Doses ureia x doses (UREIA + SH)	16	1,3	0,2	2,1**	1,4	1,8**
Doses de SH x doses (UREIA + SH)	16	1,4	0,9	0,6	0,8	0,6
Doses ureia x doses SH x doses (UREIA + SH)	64	1,3	0,2	2,9***	1,6*	2,7***
Local 2						
Tratamentos	14	1,7*	1,7*	1,2 <sup>NS</sup>	0,9 <sup>NS</sup>	1,3 <sup>NS</sup>
Doses ureia linear	1	0,1	0,7	0,1	1,0	3,9
Doses ureia quadrática	2	0,4	0,4	2,1	0,8	0,7
Doses SH linear	1	3,1*	3,7**	0,5	0,6	0,6
Doses SH quadrática	2	1,2	0,7	0,2	0,1	0,2
Doses (UREIA+SH) linear	1	2,2	4,2**	0,0	0,6	2,7
Doses (UREIA+SH) quadrática	2	4,7**	4,6**	0,5	0,6	0,1
Doses ureia x doses SH	16	0,5	0,7	0,3	0,2	0,8
Doses ureia x doses (UREIA + SH)	16	1,0	1,9**	0,8	1,6	0,3
Doses de SH x doses (UREIA + SH)	16	3,2***	3,7***	0,3	1,3	0,4
Doses ureia x doses SH x doses (UREIA + SH)	64	1,9**	0,9*	0,7	1,6	0,3
Local 3						
Tratamentos	14	2,9***	4,6***	1,8 <sup>NS</sup>	2,3**	2,9***
Doses ureia linear	1	9,3***	21,5***	0,6	1,3	0,5
Doses ureia quadrática	2	0,5	1,2	0,4	0,1	1,4
Doses SH linear	1	5,4**	3,6*	1,9	2,1	1,9
Doses SH quadrática	2	0,6	1,1	0,1	0,1	0,1
Doses (UREIA+SH) linear	1	12,6***	15,6***	0,1	0,2	0,0
Doses (UREIA+SH) quadrática	2	0,3	0,3	3,1	5,2**	6,6**
Doses ureia x doses SH	16	0,1	2,6**	0,6	0,2	1,4
Doses ureia x doses (UREIA + SH)	16	4,3***	6,6***	1,6	0,7	2,5**
Doses de SH x doses (UREIA + SH)	16	5,1***	4,8***	1,4	2,9**	2,6**
Doses ureia x doses SH x doses (UREIA + SH)	64	4,3***	6,7***	1,5	3,1***	3,8***

§GL: Graus de liberdade.

NS, não significativo.

\* Significativo a 0,1 de probabilidade.

\*\* Significativo a 0,05 de probabilidade.

\*\*\* Significativo a 0,01 de probabilidade.

Tabela 3.4 - Produtividade de colmos (TCH), açúcar total por hectare (ATH), brix (%), fibra (%) e açúcar total recuperável (ATR). Local 1 (LATOSSOLO VERMELHO DISTRÓFICO, 1ª soca); Local 2 (ARGISSOLO VERMELHO AMARELO; 1ª soca) e Local 3 (LATOSSOLO VERMELHO distrófico, 2ª soca).

Treatmentos	TCH Mg ha <sup>-1</sup>	ATH Mg ha <sup>-1</sup>	Brix g kg <sup>-1</sup>	Fibra g kg <sup>-1</sup>	ATR kg Mg <sup>-1</sup>	EUN <sub>TCH</sub> † kg kg <sup>-1</sup>	EUN <sub>ATH</sub> † kg kg <sup>-1</sup>
Local 1							
UREIA0	160	27.4	223	114	167	-	-
UREIA1	140	24.3	215	117	162	-423	-1,5
UREIA2	154	24.8	222	121	171	27,1	16,6
UREIA3	149	25.8	230	118	175	-32,5	9,9
UREIA4	147	25.1	226	114	174	-59,6	-1,9
SH0	142	23.0	219	116	166	-	-
SH1	156	26.7	228	118	174	-	-
SH2	159	27.3	229	112	176	-	-
SH3	152	24.9	225	121	170	-	-
SH4	151	24.8	223	118	169	-	-
UREIA0+SH0	152	23.8	225	116	172	-	-
UREIA1+SH1	146	24.4	222	112	171	-168,7	22,5
UREIA2+SH2	158	25.7	223	120	168	110,3	37,8
UREIA3+SH3	149	24.8	223	117	169	-2	12,8
UREIA4+SH4	155	24.8	219	115	168	-3,2	27,8
F value	0,9 <sup>NS</sup>	0,6 <sup>NS</sup>	1,8 <sup>**</sup>	1,6 <sup>*</sup>	1,6 <sup>*</sup>	1,1 <sup>NS</sup>	0,4 <sup>NS</sup>
Local 2							
UREIA0	119	21.4	231	116	177	-	-
UREIA1	126	22.6	232	119	176	294	45,5
UREIA2	122	21.4	226	113	174	56	0,6
UREIA3	123	21.3	233	120	177	19	-7,1
UREIA4	122	20.9	223	120	169	29	-5
SH0	117	20.7	228	115	175	-	-
SH1	126	21.7	224	115	172	-	-
SH2	126	22.3	228	115	174	-	-
SH3	129	23	230	114	176	-	-
SH4	128	22.6	227	113	175	-	-
UREIA0+SH0	121	20.5	224	117	168	-	-
UREIA1+SH1	131	23.2	231	119	175	384	109,5
UREIA2+SH2	139	24.4	227	115	173	363	78,7
UREIA3+SH3	133	22.9	223	113	170	154	32,3
UREIA4+SH4	131	23.5	231	117	177	101	29,8
F value	1,7 <sup>*</sup>	1,7 <sup>*</sup>	1,2 <sup>NS</sup>	0,9 <sup>NS</sup>	1,3 <sup>NS</sup>	3,1 <sup>***</sup>	4,3 <sup>***</sup>
Local 3							
UREIA0	107	17.3	218	118	162	-	-
UREIA1	113	18.2	218	121	160	128	32,6
UREIA2	111	18.5	223	117	165	84	22,1
UREIA3	116	19.2	214	118	157	140	11,6
UREIA4	124	20.9	224	115	166	171	16,4
SH0	109	17.7	218	120	161	-	-
SH1	113	18.8	219	124	160	-	-
SH2	121	19.7	218	116	161	-	-
SH3	117	18.3	214	119	156	-	-
SH4	121	19.3	214	118	158	-	-
UREIA0+SH0	108	17.6	217	117	162	-	-
UREIA1+SH1	119	19.8	217	121	159	464	52,7
UREIA2+SH2	121	19.6	222	113	167	256	44,5
UREIA3+SH3	130	21.8	222	111	167	291	49,8
UREIA4+SH4	129	20.4	215	121	158	209	23,4
F value	2,9 <sup>***</sup>	4,6 <sup>***</sup>	1,1 <sup>NS</sup>	2,3 <sup>**</sup>	2,9 <sup>***</sup>	2,6 <sup>**</sup>	1,8 <sup>*</sup>

\*, \*\* e \*\*\* indicam efeito significativo para  $p \leq 0.1$ ; 0,05 e 0,01, respectivamente. NS- Não significativo; TCH: ton. de cana por hectare; ATH: Açúcar total per hectare; Brix: sólido solúveis totais; ATR: açúcar total recuperável. †EUN<sub>TCH</sub> and EUN<sub>ATH</sub>: Eficiência do uso de N (EUN) para TCH e ATH estimado de acordo com a equação 1.

No experimento 3 (LATOSSOLO VERMELHO eutrófico, 2ª soca), exceto para o Brix, todos os parâmetros foram positivamente influenciados pelos tratamentos ( $P < 0,05$ -Tabelas 3.3 e 3.4). A aplicação de ureia aumentou a produtividade de colmos, embora, quando comparada com a aplicação da mistura: UREIA + SH, proporcionou incrementos extras de TCH (7%) e ATH (10%). Fortes et al. (2013) também relataram aumentos de produtividade tanto na TCH e quanto na ATH na primeira e na segunda soqueira de cana-de-açúcar com doses crescentes de  $N-NH_4NO_3$  (0, 50, 100 e 150  $kg\ ha^{-1}$  de N). Os mesmos autores encontraram respostas lineares de TCH para doses de N aplicadas em um LATOSSOLO VERMELHO distrófico (São Paulo, Brasil). Em outros estudos, com diferentes condições, em solo arenoso (Flórida, EUA), McCray et al. (2014) encontraram respostas quadráticas em TCH e ATH para doses de ureia superiores à recomendação atual N (202  $kg\ N\ ha^{-1}$ ). O efeito da resposta de N na TCH e ATH pode ser explicado fisiologicamente devido a mudanças no crescimento da planta, número de perfilhos, na produção de biomassa e, conseqüentemente afetando a quantidade de açúcar armazenado. Nestes estudos, nos locais 2 e 3 ocorreram diferenças estatísticas ( $P < 0,05$ ) para resposta à adubação nitrogenada no TCH e ATH (Tabelas 3.3 e 3.4). Nenhuma resposta foi observada no local 1 para TCH e ATH (Tabela 3.4). Essa variação de resposta à adubação nitrogenada é comum e pode ocorrer frequentemente em cana-de-açúcar colhida sem queima, de acordo com estudos realizados anteriormente (VIEIRA et al., 2010; OTTO et al., 2013).

A EUN para cana de açúcar foi estimada pelo cálculo do fator de FPP, tanto para colmos e quanto para açúcar (Tabela 3.4). A aplicação de fertilizante nitrogenado em combinação com SH mostrou vantagem significativa no fator FPP para os locais 2 (primeira soca) e 3 (segunda soca). A FPP para colheita de cana ( $FPP_{TCH}$ ) variou de -423 a 464  $kg^{-1}$   $kg$  de cana N.  $FPP_{TCH}$  máxima foi obtida com baixa dose de N fertilizante (25  $kg\ N\ ha^{-1}$ ), em combinação com SH (Tabela 3.4). A aplicação combinada de UREIA + SH apresentou a tendência de valores elevados  $FPP_{TCH}$  quando comparada com a aplicação única de UREIA. O  $FPP_{TCH}$  foi significativamente maior para UREIA + SH vs. UREIA sob a taxa de UREIA1 (25  $kg\ N\ ha^{-1}$ ) para o local 3 e a UREIA2 (50  $kg\ N\ ha^{-1}$ ) para o local 2 (Tabela 3.4, Figura 3.2).



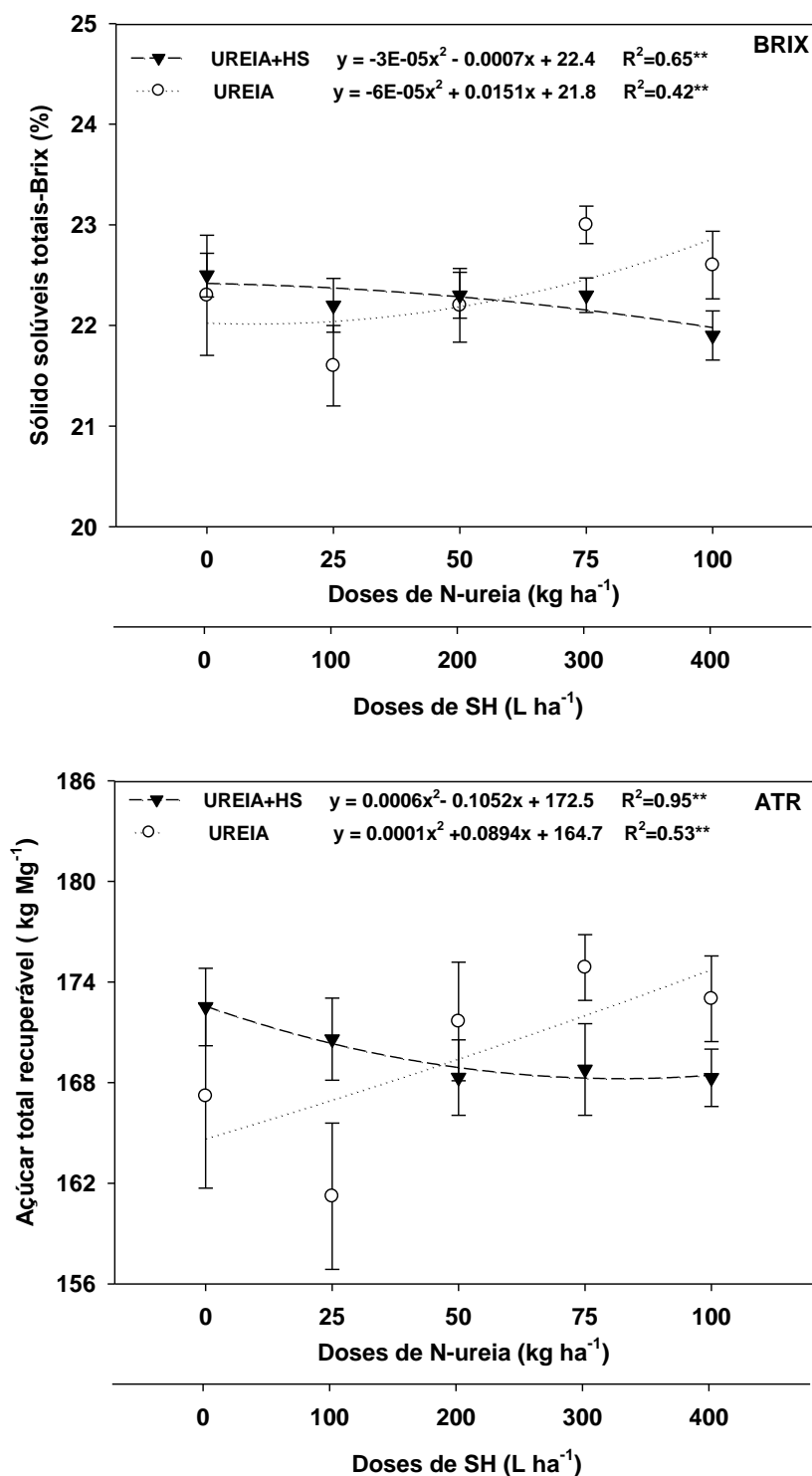


Figura 3.2 - Sólidos solúveis totais (BRIX<sup>0</sup>-%) e açúcar total recuperável (ATR) na área 1 (LATOSSOLO VERMELHO-primeira soqueira) da cana-de-açúcar influenciados pelas doses de ureia (N-fertilizante) e doses de ureia+SH (N-fertilizante + substâncias húmicas). \*, \*\* e \*\*\* indicam efeito significativo da  $p \leq 0.1$ ; 0,05 e 0,01, respectivamente. As barras de erro indicam o erro padrão médio para os tratamentos indicados.

O fator FPP para conteúdo de açúcar ( $FPP_{ATH}$ ) variou de -7,1 a 109,5 kg de açúcar  $kg^{-1}$  de N, maximizando este fator na menor dose de ureia (25 kg N  $ha^{-1}$ ), em combinação com SH (Tabela 3.4). A aplicação combinada de ureia + SH aumentou os valores de  $FPP_{ATH}$ , apresentando diferenças estatísticas significativas para todas as doses de N no local 2 e para a dose de N intermediária (UREIA3, 75 kg N  $ha^{-1}$ ), no local 3 quando os tratamentos ureia + SH foram comparadas às doses de ureia equivalente com a única aplicação de fertilizantes N (Tabela 3.4). O cálculo FPP destacou que a aplicação de SH em combinação com UREIA pode não só melhorar a produtividade, mas também EUN no sistema em escala de cultivo.

No experimento 1, uma avaliação com  $^{15}N$  foi realizada com o objetivo de caracterizar a EUN (dados não mostrados). A recuperação do  $^{15}N$ -fertilizante foi estimada no final do ciclo e não houve diferença entre os tratamentos com ureia e ureia+SH. Mais avaliações são necessárias para compreender adequadamente as diferenças na recuperação do fertilizante e relacioná-las com os estádios da cultura (EUN no início do ciclo vs. EUN tardio). De acordo com Franco et al. (2011) no início do desenvolvimento da cana-de-açúcar o fertilizante nitrogenado chega a contribuir com até 70% no conteúdo total de N. Porém na época de maturação da cultura a EUN diminui e muitas das vezes não é possível observar diferença entre tratamentos.

A aplicação combinada de ureia + SH influenciou os resultados da TCH e TSH em soqueiras de cana-de-açúcar. Potencialmente, a aplicação de SH aumenta o crescimento das plantas e a absorção de nutrientes, tanto de fertilizantes como do solo (ZANDONADI et al., 2007; ÇELIK et al., 2011). Estudos anteriores demonstraram efeitos da SH e de doses de N de fertilizantes em milho e trigo, relacionados à absorção e assimilação de nutrientes (ÇELIK et al., 2011; CANELLAS et al., 2012). Apesar de diversos resultados na literatura em outras culturas, não há informações disponíveis para estudos de campo com aplicação de ureia + SH em cana-de-açúcar. Além disso, com a crescente importância do cultivo da cana-de-açúcar para a produção de energia há a necessidade de melhorar a EUN nessa cultura (MATSUOKA et al., 2009).

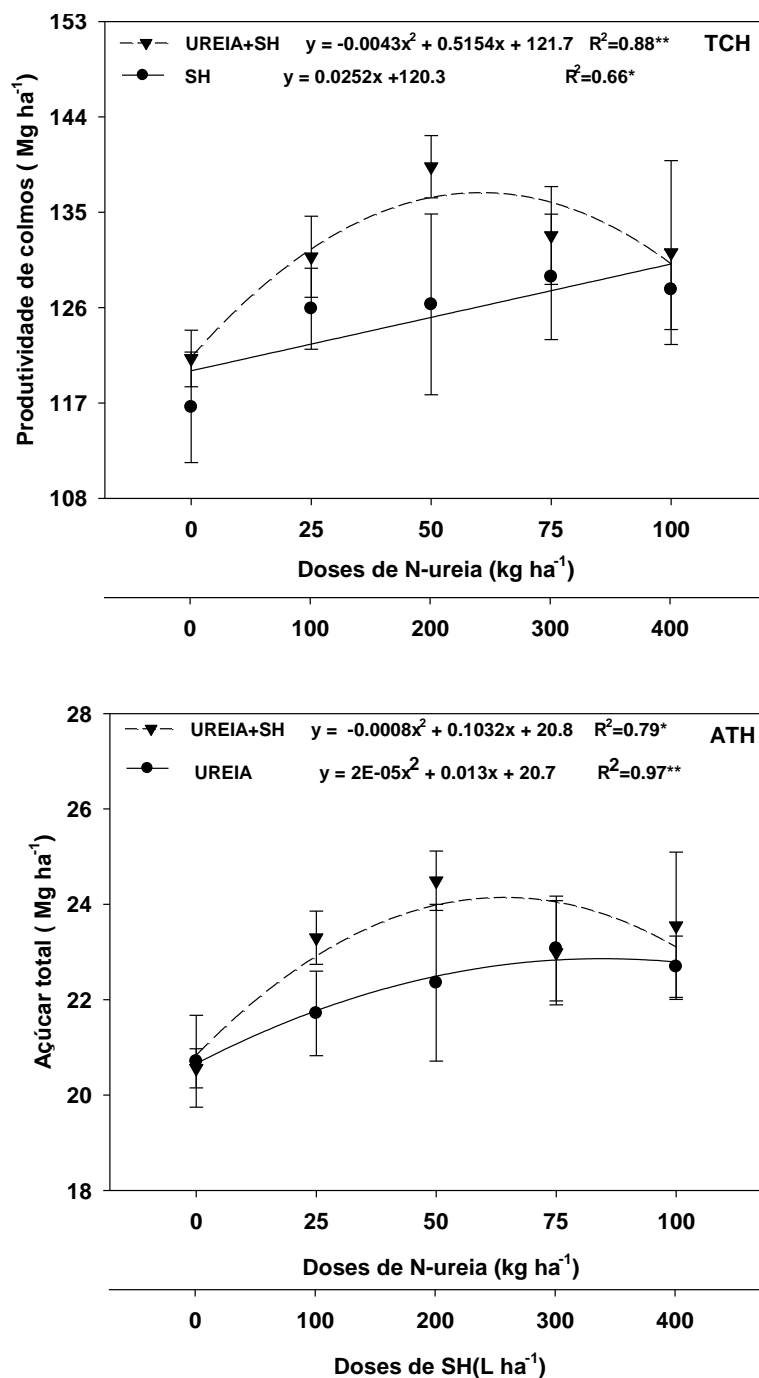


Figura 3.3 - Produtividade de colmos (TCH) e produtividade de açúcar total (ATH) na área 2 (ARGISSOLO VERMELHO AMARELO-primeira soqueira) de cana-de-açúcar influenciada por doses de ureia+SH (N-fertilizante+substâncias húmicas) e doses de SH (substâncias húmicas). \*, \*\* e \*\*\* indicam efeito significativo da  $p \leq 0.1$ ; 0,05 e 0,01, respectivamente. As barras de erro indicam o erro padrão médio para os tratamentos indicados.

Atualmente, o Brasil é responsável por 42% da produção mundial de cana-de-açúcar e apenas a EUN é muito baixa; estimativas apontam valor médio da ordem de 25% de recuperação do N. O aumento da EUN na cana-de-açúcar pode contribuir para seu “status” como o de cultura bioenergética (MATSUOKA et al., 2009; ROBINSON et al., 2011). Os resultados deste trabalho indicam que a ureia + SH contribuiu para aumentar TCH para doses médias de N ( $75 \text{ kg N ha}^{-1}$ ), sugerindo que a SH pode melhorar a EUN do fertilizante e contribuir no sentido de elevar o “status” da cana-de-açúcar como uma cultura bioenergética (Tabela 3.4).

O teor de fibra da cana foi afetado pelos tratamentos implementados nos locais 1 e 3 (Tabelas 3.3 e 3.4). Conteúdos de fibras variaram entre 11 e 12% em todos os locais, mas neste estudo não foi influenciado por fatores de tratamento (Tabela 3.3). Quantidades mais elevadas de fibra podem diminuir o conteúdo de sacarose, enquanto valores mais baixos podem facilitar o tombamento do colmo (ROSSATO et al., 2013). Aplicações de ureia+SH combinadas modificaram o conteúdo de ATR em 2 locais (Tabela 3.4, Figuras 3.3 e 3.4). As altas taxas de ureia + SH influenciaram negativamente variando de 167-158 kg Mg<sup>-1</sup> para 50 a 100 kg N ha<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 3.4). Aplicação de SH em mistura com N-ureia em baixa dose ( $50 \text{ kg N ha}^{-1}$ ) promoveu maior acúmulo de ATR no colmo em relação aos outros tratamentos, sem apresentar diferença para os tratamentos somente com N-ureia (Tabela 3.4).

A variável ATR diminuiu após o uso combinado de alta taxa de ureia + SH ( $100 \text{ kg N ha}^{-1}$ ). Pode-se aventar como hipótese que SH poderia aumentar o metabolismo N e do C na planta, uma vez que as enzimas ligadas à assimilação de N foram estimuladas e aumentam a síntese de aminoácido gerando proteínas (CANELLAS et al., 2012; 2014). As SH podem afetar as atividades de enzimas ligadas à glicólise e ao ciclo do C em plantas, dependendo do tamanho das SH, da característica molecular, da concentração e da fonte (NARDI et al., 2007; MUSCOLO et al., 2013; ROSE et al., 2014).

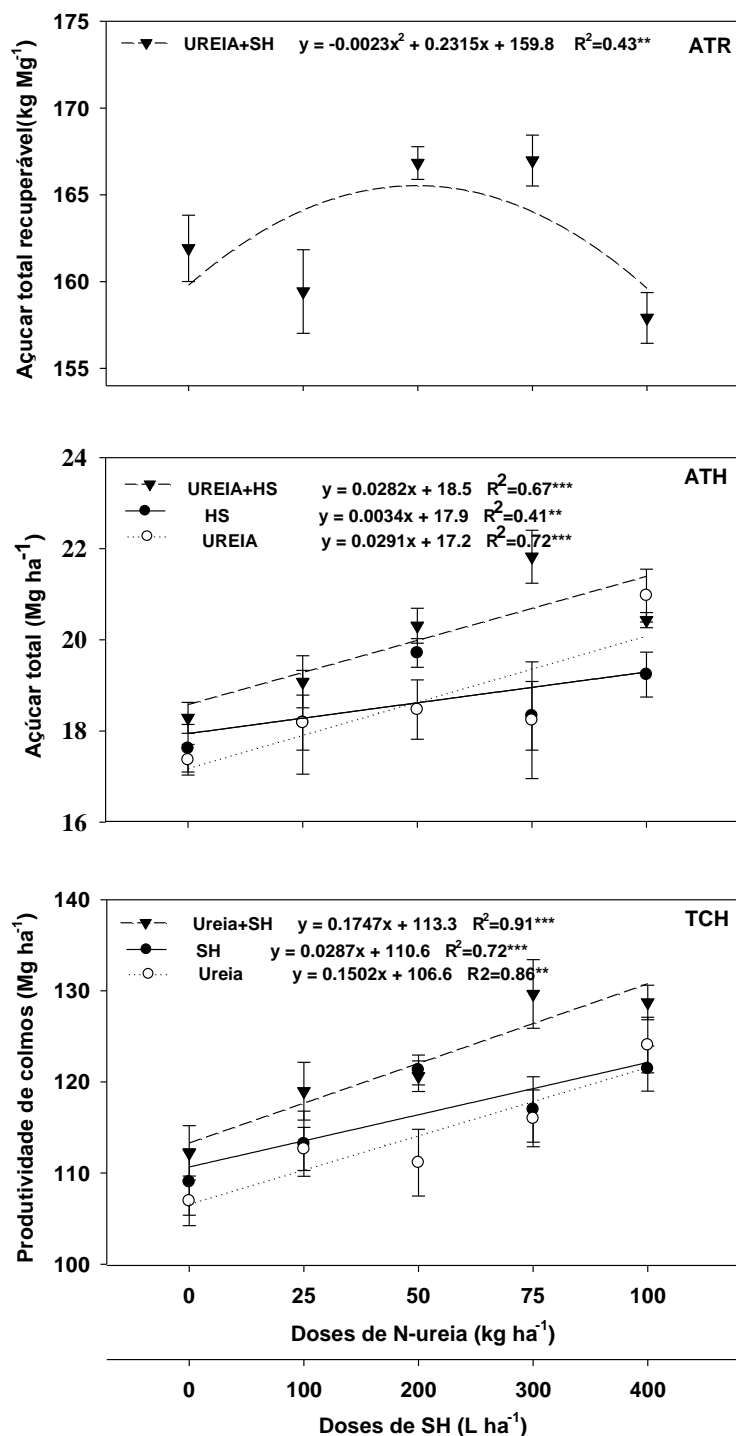


Figura 3.4 - Produtividades de colmos (TCH) e produção de açúcar total (ATH) na área 2 (LATOSSOLO VERMELHO- primeira soqueira) de cana-de-açúcar influenciadas por doses de ureia+SH (N-fertilizante + substâncias húmicas) e doses de SH (substâncias húmicas). \*, \*\* e \*\*\* indicam efeito significativo da  $p \leq 0.1$ ; 0,05 e 0,01, respectivamente. As barras de erro indicam o erro padrão médio para os tratamentos indicados.

Em estudos em casa de vegetação, Canellas et al. (2012) encontraram efeito positivo de SH no principal metabolismo fotossintético em folhas de milho, diminuindo o teor de amido, bem como o aumento das taxas de SH. Estes autores constataram que o conteúdo de hidratos de carbono livre em extratos de folhas foi 60% menor em plantas de milho controle em comparação com plantas tratadas com SH, mostrando redução de frutose, glicose e amido. Esse efeito ocorreu porque o metabolismo de N e C é induzido pelas SH e alterou o nível e distribuição de açúcares nas plantas, conseqüentemente, aumentando a produtividade da planta e a eficiência no uso de nutrientes (NARDI et al., 2007; CANELLAS et al., 2012, 2014).

Para entender melhor o efeito das SH e a absorção de nutrientes, é necessário o estudo da dinâmica dos nutrientes ao longo do ciclo da cultura e o fracionamento deste nutriente nas plantas de cana-de-açúcar. Provavelmente, o principal efeito da SH, deve ocorrer logo após a aplicação do fertilizante. Neste exemplo, SH pode otimizar a absorção de N e o metabolismo N nas folha, conseqüentemente, aumentando a eficiência de utilização do N (CANELLAS; OLIVARES, 2014).

### 3.3 Conclusão

Há variabilidade na resposta ao N em soqueiras. Entretanto, a mistura de ureia+SH aumenta a produtividade de colmos e os parâmetros tecnológicos quando aplicada em soqueiras de cana-de-açúcar. Porém, doses elevadas desta mistura provocam redução na produtividade de colmos e no ATR.

### Referências

BASANTA, M.V.; DOURADO-NETO, D.; REICHARDT, K.; BACCHI, O.O.S.; OLIVEIRA, J.C.M.; TRIVELIN, P.C.O.; TIMM, L.C.; TOMINAGA, T.T.; CORRECHEL, V.; CASSARO, F.A.M.; PIRES, L.F.; MACEDO, J.R. Management effects on nitrogen recovery in a sugarcane crop grown in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 116, p. 235-248, 2003.

BREMNER, J.M.; JENKINSON, D.S. Determination of organic carbon in soil. I. Oxidation by dichromate of organic matter in soil and plant materials. **Journal of Soil Science**, New York, v. 11, p. 394-402, 1960.

CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. **Chemical Biological Technological Agricultural**, Di Napoli, v. 1, p. 1-11, 2014.

CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.O.; OLIVARES, F.L.; FAÇANHA, A.R. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. **Plant Physiology**, London, v. 130, p. 1951-1957, 2002.

CANELLAS, L.P.; MARTÍNEZ, B.D.; MÉDICI, L.O.; AGUIAR, N.O.; CAMPOSTRINI, E.; ROSA, R.C.; FAÇANHA, A.; OLIVARES, F.L. A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 66, p. 119-132, 2012.

CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van; QUAGGIO, J.A. Soil and plant analyses for lime and fertilizer recommendations in Brazil. **Communication Soil Science Plant analyses**, New York, v. 29, p. 1691-1706, 1998.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O.; CONTIN, T.L.M.; DIAS, F.L.F.; ROSSETTO, R.; MARCELINO, R.; COIMBRA, R.B.; QUAGGIO, J.A. Ammonia volatilization from urease inhibitor-treated urea applied to sugarcane trash blankets. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, p. 397-401, 2008.

ÇELİK, H.; KATKAT; A.V.; AŞIK B.B.; TURAN, M.A. Effect of foliar-applied humic acid to dry weight and mineral nutrient uptake of maize under calcareous soil conditions. **Communications Soil Science Plant Analysis**, New York, v. 42, p. 29-38, 2010.

CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA. **Manual de métodos de análises para açúcar**. Piracicaba: CTC, 2005. 121p.

CIAMPITTI, I.A.; VYN, T.J. Physiological perspectives of changes over time in maize yield dependency on nitrogen uptake and associated nitrogen efficiency: A review. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 133, p. 48–67, 2012.

COSTA, M.C.G.; VITTI, G.C.; CANTARELLA, H.. Volatilização de N-NH<sub>3</sub> de fontes nitrogenadas em cana-de-açúcar colhida sem despalha a fogo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 631-637, 2003.

DANE, J.H.; HOPMANS, J.W. Pressure plate extractor. In: DANE, J.H.; TOPP, G.C. **Methods of soil analysis: physical methods**. Madison: Soil Science Society of America, 2002. p. 688-690.

DAWAR, K.; ZAMAN, M.; ROWARTH, J.S.; BLENNERHASSETT, J.; TURNBULL, M.H. Urea hydrolysis and lateral and vertical movement in the soil: effects of urease inhibitor and irrigation. **Biology Fertility Soils**, Berlin, v. 47, p. 139-146, 2011.

DONG, L.; KREYLOS, A.L.; YANG, J.; YUAN, H.; SCOW, K.M. Humic acids buffer the effects of urea on soil ammonia oxidizers and potential nitrification. **Soil Biology Biochemistry**, Oxford, v. 4, p. 1612-1621, 2009.

FORTES, C.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C.; OTTO, R.; FRANCO, H.C.J.; FARONI, C.E. Stalk and sucrose yield in response to nitrogen fertilization of sugarcane under reduced tillage. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, p. 88-96, 2013.

FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, E.C.A.; TRIVELIN, P.C.O. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer in Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 121, p. 29-41, 2011.

GALDOS, M.V.; CERRI, C.C.; CERRI, C.E.P. Soil carbon stocks under burned and unburned sugarcane in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 153, p. 347-352, 2009.

GALDOS, M.; CAVALETT, O.; SEABRA, J.E.A.; NOGUEIRA, L.A.H.; BONOMI, A. Trends in global warming and human health impacts related to Brazilian sugarcane ethanol production considering black carbon emissions. **Apply Energy**, New York, v. 104, p. 576-582, 2013.

GAVA, G.J.C.; TRIVELIN, P.C.O.; OLIVEIRA, M.W.; PENATTI, C.P. crescimento e acúmulo de nitrogênio em cana-de-açúcar cultivada em solo coberto com palhada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, p. 1347-1354, 2001.

GEE, G.W.; BAUDER, J.W. Particle-size analysis. In: KLUTE, A. **Methods of soil analysis: physical and mineralogical methods**. Madison: ASA; SSSA, 1986. p. 383-411.

KASIM, S.; AHMED, O.H.; MAJID, N.M.A.; YUSOP, M.K.; JALLOH, M.B. Reduction of ammonia loss by mixing urea with liquid humic and fulvic acids isolated from tropical peat soil. **American Journal of Agricultural Biological Science**, Chicago, v. 4, p. 18-23, 2009.

MARIANO, E.; TRIVELIN, P.C.O.; VIEIRA, M.X.; LEITE, J.M.; OTTO, R.; FRANCO, H.C.J. Ammonia losses estimated by an open collector from urea applied to sugarcane straw. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, p. 411-418, 2012.

MATSUOKA, S.; FERRO, S.; ARRUDA, P. The Brazilian experience of sugarcane ethanol industry. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, Columbia, v. 45, p. 372-381, 2009.

MCCRAY, J.M.; MORGAN, K.T.; BAUCUM, L.; JI, S. Sugarcane yield response to nitrogen on sand soils. **Agronomy Journal**, Madison, v. 106, p. 1461-1469, 2014.

MUSCOLO, A.; SIDARI, M.; NARDI, S. Humic substance: relationship between structure and activity. Deeper information suggests univocal findings. **Journal Geochemical Exploration**, Amsterdam, v. 129, p. 57-63, 2013.

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A.; VIANELLO, A.; Physiological effects of humic substances on higher plants. **Soil Biological & Biochemistry**, Oxford, v. 34, p. 1527-1536, 2002.



NARDI, S.; MUSCOLO, A.; VACCARO, S.; BAIANO, S.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A. Relationship between molecular characteristics of soil humic fractions and glycolytic pathway and Krebs cycle in maize seedlings. **Soil Biological & Biochemistry**, Oxford, v. 39, p. 3138-3146, 2007.

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; GESSA, C.; FERRARESE, L.; TRAINOTTI, L.; CASADORO, G. A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 32, p. 415-419, 2000.

OTTO, R.; MULVANY, R.L.; KHAN, S.A.; TRIVELIN, P.C.O. Quantifying soil nitrogen mineralization to improve fertilizer nitrogen management of sugarcane. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 49, p. 893-904, 2013.

PEIRIS, D.; PATTI, A.F.; JACKSON, W.R.; MARSHALL, M.; SMITH, C.J. The use of Ca-modified, brown-coal-derived humates and fulvates for treatment of soil acidity. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 40, p. 1171-1186, 2002.

PICCOLO, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Structural characteristics of humic substances as related to nitrate uptake and growth regulation in plant systems. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 24, p. 373-380, 1992.

PRASERTSAK, P.; FRENEY, J.R.; DENMEAD, O.T.; SAFFIGNA, P.G.; PROVE, B.G.; REGHENZANI, J.R. Effects of fertilizer placement on nitrogen loss from sugarcane in tropical Queensland. **Nutrient Cycling Agroecosystems**, Dordrecht, v. 2, p. 229-239, 2002.

QUAGGIO, J.A.; RAIJ, B. van; MALAVOLTA, E. Alternative use of SMP buffer solution to determine lime requirement of soils. **Communication Soil Science Plants analyses**, New York, v. 16, p. 245-260, 1985.

QUAGGIOTTI, S.; RUPERT, B.; PIZZEGHELLO, D.; FRANCIOSO, O.; TUGNOLI, V.; NARDI, S. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 803-813, 2004.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001. 300 p.

ROBINSON, N.; BRACKIN, R.; VINALL, K.; SOPER, F.; HOLST, J.; GAMAGE, H.; PAUNGFOO-LONHIENNE, C.; RENNENBERG, H.; LAKSHMANAN, P.; SCHMID, S. Nitrate paradigm does not hold up for sugarcane. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 6, p 1-9, 2011.

ROSSATO, J.A.S.; COSTA, G.H.G.; MADALENO, L.L.; MUTTON, M.J.R.; HIGLEY, L.G.; FERNANDES, O.A. Characterization and impact of the sugarcane borer on sugarcane yield and quality. **Agronomy Journal**, Madison, v. 105, p. 643-648. 2013.

ROSE, M.T.; PATTI, A.F.; LITTLE, K.R.; BROWN, A.L.; JACKSON, W.R.; CAVAGNARO, T.R. A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 124, p. 37-89, 2014.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT 9.1**: user's guide. Cary, 2004.

SANCHES, S.M.; CAMPOS, S.X.; VIEIRA, E.M. Caracterização das frações das substâncias húmicas de diferentes tamanhos moleculares. **Ecletica Química**, Araraquara, v. 32, p. 49-56, 2007.

SCHNEIDER, F. 1979. **ICUMSA methods of sugar analysis**. Peterborough: International Commission Uniform Methodology Sugar Analysis 1979. p.456.

SOIL SURVEY STAFF. **Keys to soil taxonomy**. Washington: USDA, Natural Resources Conservation Service, 2010. 495 p.

SPIRONELLO, A.; RAIJ, B. van; PENATTI, C.P.; CANTARELLA, H.; MORELLI, J.L.; ORLANDO FILHO, J.; LANDELL, M.G.A.; ROSSETTO, R. Cana-de-açúcar. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Fundação IAC, 1997. p. 237-239.

STEVENSON, F. J. Extraction, fractionation and general chemical composition of soil organic matter. In: \_\_\_\_\_. **Humus chemistry**. New York: John Wiley, 1982. p. 23-56, 1982.

TRIVELIN, P.C.O.; FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; FERREIRA, D.A.; VITTI, A.C.; FORTES, C.; FARONI, C.E.; OLIVEIRA, E.C.A.; CANTARELLA, H. Impact of sugarcane trash on fertilizer requirements for São Paulo, Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, p. 345-352, 2013.

VALDRIGHI, M.M.; PERA, A.; AGNOLUCCI, M.; FRASSINETTI, S.; LUNARDI, D.; VALLINI, G. Effects of compost-derived humic acids on vegetable biomass production and microbial growth within a plant (*Cichorium intybus*)-soil system: a comparative study, **Agriculture Ecosystem Environment**, New York, v. 58, p. 133-144. 1996

VIEIRA, M.X.; TRIVELIN, P.C.O.; FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; FARONI, C.E. Ammonium chloride as nitrogen source in sugarcane harvested without burning. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa v. 34, p. 1165-1174, 2010.

VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; FRANCO, H.C.J.; BOLOGNA, I.R.; FARONI, C.E. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada à localização de adubos nitrogenados aplicados sobre os resíduos culturais em canavial sem queima. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 491-498, 2007.

ZANDONADI, D.B.; CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H<sup>+</sup> pumps activation. **Planta**, New York, v. 225, p. 1583-1595, 2007.

## 4 AUMENTO DA EFICIÊNCIA DO USO DE N EM CANA-DE-AÇÚCAR COM SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E UREIA

### Resumo

A aplicação via foliar de ureia em mistura com substâncias húmicas (SH) pode ser uma alternativa para aumentar a eficiência do uso de nitrogênio na cana-de-açúcar. Objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos dos ácidos húmicos (AH), e das substâncias húmicas (SH) e ureia fertilizante sob alguns parâmetros biométricos e fisiológicos, incluindo EUN avaliada com traçador  $^{15}\text{N}$  em mudas de cana-de-açúcar. Dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação: o primeiro usando areia lavada e solução nutritiva e outro utilizando uma mistura de substrato: areia, 2:1. Em ambos os experimentos, ureia, mistura de ureia + SH e ureia + AH foram aplicadas às folhas de cana-de-açúcar. Foram realizadas avaliações (1, 3, 6, 24, 96, 192, 360 e 720 horas) após a aplicação de fertilizantes. Em média nos dois experimentos, a recuperação de  $^{15}\text{N}$  (EUN) foi maior para a ureia + SH (49%) em comparação com ureia + AH (43%) e somente ureia (37%). A adubação foliar de ureia + SH aumentou o valor total de proteína (7, 24, 17 e 93%) quando comparada com aplicação de ureia após 96, 192, 360 e 720 horas da aplicação dos fertilizantes, respectivamente. Os resultados mostraram que a aplicação foliar de SH+ureia e AH+ureia proporcionou rápida absorção da ureia e aumentou o aproveitamento do N fertilizante. A fração húmica induziu à mudanças no metabolismo da planta, como por exemplo, carboidrato total, teor de amido e proteína total, sugerindo efeito sinérgico de SH e ureia. Estes resultados mostraram uso promissor de substâncias húmicas para melhorar a EUN em cana-de-açúcar.

Palavras-chave: *Saccharum* spp.; Fertilizante nitrogenado; Ácido húmico; Eficiência do uso de N;  $^{15}\text{N}$  isótopos

### Abstract

Foliar urea application combine humic substance (HS) provides an alternative strategy to increase the nitrogen use efficiency in sugarcane (*Saccharum* spp.). The goal of this study is to investigate the effects of humic acid (HA), HS and urea fertilizer foliar application on some biometric and physiological parameters including NUE measured by  $^{15}\text{N}$  in sugarcane seedlings evaluated in early stages of cultivation. Two experiments were conducted in the greenhouse: one using washed sand and nutrient solution and other using a mixture of substrate: sand, 2:1. In both experiments, urea, combine of urea+HS and urea+HA were applied as a foliar spray on leaves of sugarcane. At early stages (1, 3, 6, 24, 96, 192, 360 and 720 hours) after fertilizers application were performed the measurements. In average of both experiments, the  $^{15}\text{N}$  recovery (NUE) was higher for urea+HS (49%) compared to urea+HA (43%) and only urea (37%). Foliar fertilization of urea+HS improve the total

protein values (7, 24, 17, and 93%) when compared with sole urea after 96, 192, 360 and 720 h after fertilizer application, respectively. Our results showed that the foliar application of HS+urea and HA+urea was rapidly absorbed by sugarcane leaves increased the N derived from fertilizer. The humic fraction induces changes in total carbohydrates, starch and total protein content, suggesting a synergistic effect of HS and urea application increased the C and N metabolism. These results show a promising use of humic substances to improve the NUE on sugarcane.

Keywords: *Saccharum* spp.; Fertilizer; Humic acid; Nitrogen use efficiency; <sup>15</sup>N isotope

#### 4.1 Introdução

O nitrogênio é o nutriente mais limitante para a produção de culturas em muitas das áreas agrícolas do mundo e sua utilização eficiente é importante para os sistemas de cultivo com sustentabilidade econômica (FAGERIA et al., 2005; WITTE, 2011). Em comparação com outros nutrientes, a planta precisa de N em grandes quantidades e também é o macronutriente mais utilizado, extraído e exportado pelas principais culturas. N é componente de muitos compostos orgânicos, é também componente de compostos como clorofila, proteínas e enzimas relacionadas com os processos fisiológicos mais importantes que ocorrem em plantas, tais como fotossíntese, respiração, proliferação celular e diferenciação celular, e DNA (FAGERIA et al. 2005; KINGSTON, 2014). As principais fontes de N absorvidas pelas plantas são o nitrato (NO<sub>3</sub>) e o amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), mas as plantas podem também absorver ureia (WITTE, 2011) e aminoácidos (JONES et al., 2002).

Fertilizantes nitrogenados são obtidos a partir da reação de síntese de amônia, por meio do processo Haber-Bosch, a partir de N<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>, sob condições de alta temperatura (400 °C) e alta pressão atmosférica (300 atm) (GALLOWAY et al., 2004). Os compostos químicos utilizados como fertilizantes nitrogenados são o nitrato de amônio, o nitrato de sódio, o nitrofosfato, o sulfato de amônio, a ureia e o cloreto de amônio. O custo energético para produzir amônio a partir de gás natural é muito alto, sendo necessários 10,584 milhões de Kcal para produzir uma tonelada de NH<sub>3</sub>, ou: 16,800 kg kcal<sup>-1</sup> de N (GALLOWAY et al., 2004). Estes dados indicam

que o N é o elemento mais caro e apresenta elevados custos energéticos em comparação aos outros fertilizantes minerais (GALLOWAY et al., 2004).

A ureia é o fertilizante nitrogenado mais utilizado na agricultura em escala global (WITTE, 2011). Mais da metade de todo N usado como fertilizante é aplicada na forma de ureia. O N da ureia só é acessível para a assimilação pelos vegetais após sua hidrólise, convertendo-se em amônia e dióxido de carbono. Além disso, no solo, o N pode ser perdido por lixiviação, desnitrificação, volatilização, escoamento superficial, e pelo consumo microbiano (FAGERIA et al., 2005; CANTARELLA et al., 2008; DAWAR et al., 2011). Portanto, para reduzir as perdas de N, reduzir a poluição ambiental e diminuir os custos de entrada, é crucial desenvolver novas tecnologias com aumento da eficiência de uso de nitrogênio (EUN). Estima-se que um aumento de 1% na EUN poderia economizar US\$ 1.100.000.000 anualmente (KANT et al., 2011).

Algumas pesquisas que envolvem técnicas de isótopos como o  $^{15}\text{N}$  na cana-de-açúcar demonstra baixa recuperação de N-fertilizante pela planta. Os valores variam entre 5 a 40% de recuperação do N-fertilizante aplicado (BASANTA et al., 2003; VITTI et al., 2007; FRANCO et al., 2011). Esta baixa eficiência de fertilizantes nitrogenados é justificada porque o N é um elemento muito dinâmico e pode ser perdido por várias formas do sistema solo-planta. Algumas estratégias já foram propostas para aumentar a EUN, por exemplo: redução de doses, aplicação em estádios de maior exigência pelas culturas, parcelamento, fontes alternativas, outros métodos de aplicação, revestimento de grânulos com diferentes compostos químicos (FAGERIA et al., 2005; CANTARELLA et al., 2008; ROBERTS, 2008; CHIEN et al., 2009; DAWAR et al., 2011). Uma alternativa viável que pode melhorar a eficiência de fertilização com N é a mistura com substâncias húmicas (SH) (CANELLAS et al., 2012, 2014). O uso de SH pode aumentar a atividade da enzima glutamina sintetase (GS) que desempenha papel importante no metabolismo de N, na taxa de crescimento, na produção de grãos e no enchimento de grãos (QUAGGIOTTI et al., 2004; ERTANI et al., 2011, 2013). A enzima GS e a glutamato sintase (GOGAT) são fundamentais para assimilação e remobilização do N e atuam diretamente no desenvolvimento da planta (ERTANI et al., 2011; CANELLAS et al., 2014). Nesse sentido, a aplicação de SH em misturas com ureia, pode aumentar a atividade da GS e da GOGAT e, conseqüentemente, aumentar a EUN e o teor de proteína total que é o N metabolicamente ativo na planta. Ficou provado que SH pode estimular a

absorção de nutrientes pelas bombas  $H^+$ , aumentar a atividade da  $H^+$ -TPases e, conseqüentemente, elevar a absorção de nutrientes (QUAGGIOTTI et al., 2004; CANELLAS et al., 2010; MUSCOLO et al., 2013; ROSE et al., 2014). A aplicação de SH associada com ureia pode aumentar a eficiência de nutrientes, reduzir perdas e aumentar a absorção de N em cana-de-açúcar.

Objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos dos AH, SH e aplicação foliar de ureia sobre alguns parâmetros biométricos e fisiológicos, incluindo a EUN medida pelo  $^{15}N$ , em estádios iniciais de desenvolvimento de mudas de cana-de-açúcar.

## **4.2 Material e Métodos**

### **4.2.1 Experimento 1**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na estação experimental da Agrolatino, Rincão, S.P., Brasil, em 2014. Os vasos utilizados foram de 25 cm de diâmetro e 38 cm de profundidade, e preenchidos com 16  $dm^3$  de areia lavada (livre de N). Todos os nutrientes foram aplicados de acordo com Malavolta (1980) (todos em  $mg\ dm^{-3}$ , nas doses: 120 de P; 150 de K; 200 de Ca; 50 de Mg; 40 de S; 0.5 de B; 1,3 de Cu; 2 de Fe; 3 de Mn; 0,1 de Mo; 0,05 de Ni; 4 de Zn). Exceto o N, todos os macronutrientes foram misturados com areia lavada antes de serem adicionados ao vaso. A solução de todos os micronutrientes e 20  $mg\ dm^{-3}$  de N em solução de ureia foi aplicada em todos os potes aos 30 dias após o plantio das gemas de cana-de-açúcar. Foram utilizadas gemas de cana-de-açúcar com 4 cm de comprimento da cultivar RB855453, que foram plantadas em vasos no dia 10 de fevereiro de 2014. A água foi adicionada ao solo em todos os vasos, diariamente, e a umidade mantida a 70% da capacidade máxima de retenção de água do solo. Os tratamentos foram aplicados aproximadamente aos 60 dias após o plantio, quando as mudas de cana-de-açúcar tinham de 5 a 6 folhas.

### **4.2.2 Experimento 2**

Este experimento foi realizado em casa de vegetação na Kansas State University, Manhattan-KS, EUA, em 2015. Os vasos tinham 20 cm de diâmetro e 22

cm de altura, e foram preenchidos com 6,5 dm<sup>3</sup> de substrato e areia na proporção de 2:1, respectivamente. Todos os nutrientes foram aplicados de acordo com Malavolta (1980), seguindo a recomendação anteriormente citada. Exceto o N, todos os macronutrientes foram misturados com substrato antes de serem colocados nos vasos. Uma gema de cana-de-açúcar com 4 cm de comprimento da cultivar CP78-1628, proveniente de Boca Raton-Florida, USA, foi mantida em câmara de crescimento sob condições climáticas controladas: período de claro / escuro de 12 / 12h; temperatura (claro / escuro) de 30/22°C; umidade relativa (luz / escuro): 70/70%; capacidade fotossintética densidade de fluxo: 400  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . As gemas foram colocadas em areia umedecida para induzir a brotação. No dia 10 de abril de 2015, após 30 dias, as mudas foram transferidas para vasos previamente preparados com substrato e fertilizantes. A correção da umidade do substrato foi realizada diariamente para 70% da capacidade máxima de retenção de água. A solução de todos os micronutrientes e 20 mg dm<sup>-3</sup> de N-ureia solução foram aplicados em todos os vasos no plantio das gemas. Os tratamentos foram aplicados aproximadamente aos 60 dias após o plantio, quando as mudas de cana-de-açúcar tinham de 5 a 6 folhas.

#### **4.2.3 Preparo dos fertilizantes**

As SH foram extraídas a partir da fonte de turfa e purificadas como descrito por Canellas et al. (2002). Um método modificado foi utilizado para o processamento de SH antes de sua aplicação aos tratamentos selecionados. Resumidamente, SH foram extraídas de turfa com solução de KOH 0,2 mol L<sup>-1</sup> em proporção de 1:5 de sólido-líquido por agitação mecânica durante 6 horas. O sobrenadante separado foi acidificado a pH 6,5 com 2 M de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Para avaliar a composição de SH e produzir o ácido húmico (AH), a suspensão foi centrifugada a 5.000g e filtrada através de um filtro Whatman n ° 42 para se obter os AH. A solução de SH foi dialisada e liofilizada contra água, utilizando-se uma membrana de corte de 1000 Da. Todos estes métodos foram realizados como descrito pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas-IHSS (STEVENSON, 1982). A composição elementar de material húmico foi avaliada por um CHNS Fisons, auto-analisador (14800). O teor de oxigênio foi obtido pela diferença e o teor de cinzas por incineração de 50 mg de

AH a 700°C, durante 8 h. A composição elementar do AH foi: C (15,7%), H (3,4%), N (1,4%), O (79,5%), S (0%), com atômica razão H / C (2,61), S / C (3,83), e C / N (12,46).

A acidez carboxílica e a acidez total foram determinadas de acordo com Purmalis e Klavins (2012). Resumidamente, para determinar os grupos carboxílicos, foi utilizado o método de acetato de Ca, com base na formação de ácido acético, para determinar o número total de grupos carboxílicos. AH (20 mg) foram pesados em um balão de Erlenmeyer de 100 mL, 10 mL de solução de acetato de cálcio a 0,2 mol/L foram adicionados e misturados sob atmosfera de N<sub>2</sub> durante 24 horas. As amostras foram tituladas a pH 9,0 com solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Para estimar a acidez total, 20 mg de AH foram dispersos em 10 mL de 0,1 mol L<sup>-1</sup> de solução de Ba(OH)<sub>2</sub>, que foi então agitada durante a noite sob uma atmosfera de N<sub>2</sub>. Filtrou-se e lavou-se com água. O filtrado, em conjunto com a solução de lavagem, foi titulada potenciométricamente com HCl 0,1 M até pH 8,4 e sob fluxo de N<sub>2</sub>. A acidez carboxílica para AH e SH foi: 3,37 e 4,05 mmol g<sup>-1</sup>, respectivamente, e a acidez total foi de: 5,9 e 8,3 mmol g<sup>-1</sup>, respectivamente.

#### 4.2.4 Delineamento experimental e aplicação dos fertilizantes

No experimento 1 após 60 dias do plantio, quando a cana-de-açúcar apresentava-se com 5-6 folhas maduras por planta, foram selecionadas as plantas com a mesma altura para a fertilização foliar. Depois de extraídos e caracterizados os AH e SH foram misturados com ureia e o produto final (AH + ureia e ureia + SH) apresentou: 60 mg g<sup>-1</sup> de N, pH 7,5, densidade de 1,15 g mL<sup>-1</sup> e 30 mg mL<sup>-1</sup> de C. Todos os tratamentos: ureia, ureia + AH, e ureia + SH foram aplicados cuidadosamente usando um pincel para ambas as superfícies das folhas de cada planta. Volumes de 1,45 mL de solução fertilizante na concentração de 6% (peso / volume) (2,08% de enriquecimento de átomos de <sup>15</sup>N) com 0,1% de agente tensoativo Triton X-100. A solução de fertilizante foi aplicada na dose de 100 mg de N por planta utilizando-se pincel. Cada aplicação foi realizada com um volume específico da solução de fertilizante por vaso com uma dose exatamente quantificada após a aplicação. Após a aplicação dos fertilizantes, para quantificar exatamente a dose aplicada, o frasco e pincel utilizados em cada vaso foram lavados e quantificadas as quantidades de fertilizante residual. Após a aplicação, a



cada manhã por volta de 8 h foi realizada pulverização de água nas folhas das plantas. Este procedimento permite que os resíduos de adubos não absorvidos presentes nas folhas sejam reidratados podendo ainda ser absorvidos. Efeito semelhante pode ocorrer no campo, devido ao efeito de orvalho (TRIVELIN et al., 1988).

No experimento 2, a aplicação de fertilizantes foi realizada da mesma maneira. No entanto, o pincel foi substituído por um spray, que foi pesado após cada aplicação para cada planta para estimar a dose exatamente aplicada. Além disso, 1,5 ml da solução (água + 0,1% de agente tensoativo Triton X-100) foram pulverizados, equivalente, a um tratamento de controle. No entanto, nenhum procedimento foi realizado para reidratação do fertilizante que permaneceu sobre as folhas de cana-de-açúcar.

#### 4.2.5 Avaliações

Nos dois experimentos, as plantas (folhas + colmos) foram colhidas após 1, 3, 6, 24, 96, 192, e 360 horas da aplicação do fertilizante, e para o experimento 2 incluiu-se o tempo de 720 horas. O material de planta colhido foi seco durante 80 horas em estufa de ar forçado a 65 ° C para avaliar o peso seco. As amostras foram moídas em moinho de facas com de 1 mm. Depois disso, as amostras foram preparadas para estimar a quantidade total de N e abundância de  $^{15}\text{N}$  (% de átomos de  $^{15}\text{N}$ ) em um espectrômetro de massa automatizado acoplado a um analisador de ANCA-GSL N (Sercon CO., UK) no Laboratório de Isótopos Estáveis no CENA-USP. A concentração total de N e razão isotópica  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  foram calculadas de acordo com o método de Barrie e Prosser (1996). Biomassa (g por planta), N total (mg por planta), nitrogênio na planta proveniente do fertilizante (NPPF) e eficiência do uso de nitrogênio (EUN) foram calculados da seguinte equação (Eq. 1):

$$NPPF = [(^{15}\text{Np} - ^{15}\text{Nn}) / (^{15}\text{Nf} - ^{15}\text{Nn})] \cdot NT \quad (1)$$

Onde NPPF é a quantidade de N na planta derivada do fertilizante (mg por planta),  $^{15}\text{Np}$  é a abundância de  $^{15}\text{N}$  na parte aérea da planta (% de átomos de  $^{15}\text{N}$ ).  $^{15}\text{Nn}$  é a abundância natural de  $^{15}\text{N}$ , sendo utilizados os valores de tratamento controle (% de átomos de  $^{15}\text{N}$ ).  $^{15}\text{Nf}$  é a quantidade de  $^{15}\text{N}$  no fertilizante (2,08% de

átomos  $^{15}\text{N}$ ) e NT é a quantidade de N extraída pelas plantas (mg por planta). A seguinte equação (Eq. 2) foi empregada para o cálculo EUN:

$$EUN = [NPPF / \text{Dose de N}] \cdot 100 \quad (2)$$

em que EUN é a porcentagem de N aplicada recuperada pela planta (%) e dose de N é a dose do fertilizante aplicado nas folhas (mg por planta). Açúcar total (TS), amido (ST), carboidratos (CA) e proteínas total (PT) foram determinados para cada tempo de amostragem. Resumidamente, as folhas F+1 foram coletadas, descartando a nervura central, embrulhadas em papel alumínio e armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  em  $\text{N}_2$  líquido. Em seguida utilizaram-se 0,5 g do tecido da folha reduzidas a pó num almofariz com  $\text{N}_2$  líquido e extraídos com etanol a 80% a  $70^{\circ}\text{C}$  durante 1 h em tubo de ensaio. Os sobrenadantes foram secos em banho-maria e os resíduos foram dissolvidos em 10 mL de água destilada.

O açúcar total foi estimado após a conversão em açúcares redutores por digestão ácida ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ -10N). A leitura da amostra foi feita a 640 nm em espectrofotômetro UV-visível (Shimadzu UV160A, Japão). Para estimar conteúdo de proteína total, a amostra de tecido vegetal (0,5 g) foi homogeneizada em almofariz ( $\text{N}_2$  líquido) com tampão de extração (15 mL), 1 g de PVPP, beta mercaptoetanol (200 mL) e em seguida centrifugou-se a 12.000 rpm a  $4^{\circ}\text{C}$  e durante 15 minutos em uma centrifugadora refrigerada (Hareus-GPX, Alemanha). Ao sobrenadante (0,5 mL), foi adicionado água destilada (0,5 mL), reagente CBB (5 mL) e água destilada (5 mL). Depois de misturar, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 595 nm em espectrofotômetro UV-visível (Shimadzu UV160A, Japão).

A fotossíntese líquida ( $A$ ,  $\mu\text{mol de m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), a taxa de transpiração instantânea ( $E$ ,  $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), e a condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) foram determinadas por um LI-6200 analisador de fotossíntese automático (LI-6400 XT; Li Cor. Lincoln, NE, USA). Os dados foram obtidos em folhas expandidas às 10 h da manhã para cada tempo de amostragem, exceto para os três primeiros tempos de amostragem (1, 3, e 6 horas após a aplicação de fertilizantes). Os efeitos dos tratamentos foram submetidos à análise de variância utilizando o teste F, ao nível de 95% de confiança. Em seguida, para as causas de variação significativa foi aplicado o teste LSD ( $p < 0,05$ ).

### 4.3 Resultados e discussão

A análise de variância revelou que não houve efeito significativo para os tratamentos para a biomassa e N total em ambos os experimentos (Tabela 4.1 e 4.2). A biomassa não foi afetada pela aplicação do fertilizante foliar quando avaliados em cada tempo de amostragem, embora ao longo do tempo de amostragem de 1 a 360 horas após a aplicação, a biomassa média tenha aumentado progressivamente de 11,2 para 23,4 mg planta<sup>-1</sup>, respectivamente. O mesmo comportamento foi observado para o valor de N total, de 1 a 360 horas após a aplicação fertilizante foliar, que aumentou de 98,9 para 156 mg planta<sup>-1</sup>. A mesma tendência foi obtida quando se compararam biomassa e N total dos experimentos 1 e 2, não tendo sido observada diferença entre os tratamentos, apenas aumento progressivo ao longo do tempo de amostragem (Tabela 4.2). A falta de resposta para a biomassa e teor de N total, inclui a comparação com o tratamento controle (sem aplicação de N) que pode ter como explicações: 1) a alta variabilidade dos resultados e 2) o curto período de tempo avaliado. O período mais longo foi de 720 horas, que é de apenas 30 dias. Talvez, o tempo não foi suficiente para transformar a o N da planta em resultado de biomassa. No entanto, para outros parâmetros foram observados efeitos significativos (Tabela 4.1 e 4.2). Isso mostrou a importância de não se avaliar apenas a biomassa, mas outros parâmetros que podem influenciar no desenvolvimento da planta.

No experimento 1, EUN e NPPF foram progressivamente influenciados pela época de amostragem, aumentando de 20,8% para 63,3% a EUN e de 17,2 para 50,4 mg planta<sup>-1</sup> para NPPF, respectivamente, de 1 a 360 horas após a aplicação do fertilizante (Tabela 4.1). Por outro lado, no experimento 2 não ocorreu esse aumento ao longo do tempo de amostragem. Por exemplo, no final (360 horas) do experimento 1, a EUN média era de 63% enquanto para o experimento 2 foi de apenas 26,3%.

Tabela 4.1 - Biomassa ( $\text{g planta}^{-1}$ ), N-total ( $\text{mg planta}^{-1}$ ), N na planta proveniente do fertilizante (NDFF) e eficiência do uso de N (EUN) avaliados pela técnica com  $^{15}\text{N}$  de fertilizantes: Ureia, Ureia+AH, Ureia+SH, aplicados às folhas de cana-de-açúcar no **Experimento 1** com a cultivar de cana-de-açúcar **RB855453**. Cada valor é média de quatro repetições

Parâmetros	Tratamentos	Tempo após aplicação dos fertilizantes (horas)						
		1	3	6	24	96	192	360
Biomassa ( $\text{mg planta}^{-1}$ )	Ureia	10,7	11,3	11,8	10,5	13,5	14,8	22,4
	Ureia+AH	11,4	11,1	9,8	13,3	12,1	15,9	24,8
	Ureia+SH	11,5	12,2	8,3	10,6	13,6	18,6	23,1
	Pr>F	0,82 <sup>ns</sup>	0,18 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>	0,13 <sup>ns</sup>	0,59 <sup>ns</sup>	0,30 <sup>ns</sup>	0,72 <sup>ns</sup>
N total ( $\text{mg planta}^{-1}$ )	Ureia	96,5	84,2	82,4	81,3 b	98,9	125	148
	Ureia+AH	99,3	94,1	72,9	111 a	92,8	119	157
	Ureia+SH	101	101	69,7	82,2 b	106	151	163
	Pr>F	0,24 <sup>ns</sup>	0,17 <sup>ns</sup>	0,43 <sup>ns</sup>	0,02*	0,51 <sup>ns</sup>	0,31 <sup>ns</sup>	0,54 <sup>ns</sup>
NPPF ( $\text{mg planta}^{-1}$ )	Ureia	15,3	11,3	9,9 b	22,2 b	32,9	38,6 b	46,5
	Ureia+AH	17,3	14,2	14,7 a	40,2 a	31,7	39,5 b	50,3
	Ureia+SH	19,0	20,1	16,2 a	26,1 b	38,3	58,3 a	54,4
	Pr>F	0,67 <sup>ns</sup>	0,47 <sup>ns</sup>	0,02*	<0,01*	0,22 <sup>ns</sup>	<0,01*	0,18 <sup>ns</sup>
EUN (%)	Ureia	19,2	18,6	15,4 b	35,2	46,3 b	49,6 b	58,1
	Ureia+AH	21,2	20,2	21,4 a	47,4	49,3 ab	53,6 b	64,5
	Ureia+SH	22,1	21,8	25,4 a	44	60,3 a	69,2 a	67,3
	Pr>F	0,83 <sup>ns</sup>	0,91 <sup>ns</sup>	<0,01*	0,13 <sup>ns</sup>	<0,04*	<0,01*	0,08 <sup>ns</sup>

ns:não significativo; \* significativo a 5 % de probabilidade pelo teste F. Letras diferentes indicam diferenças entre tratamentos na mesma época de avaliação de acordo com o teste LSD.

Esta diferença entre experimentos pode ser explicada pela forma como o fertilizante foi aplicado. Tal como descrito anteriormente, no experimento 1 foi utilizado o pincel e todos os dias pela manhã (8h00), foi feita pulverização de água após aplicação de fertilizantes, para simular as gotas de orvalho. No experimento 2 para aplicar o fertilizante foi utilizado o spray de mão e não foi aplicada água após a aplicação de fertilizantes. No experimento 1, possivelmente, a água borrifada pode

ter solubilizado o restante do fertilizante sobre a folha de cana-de-açúcar. Esta resolubilização pode melhorar a absorção de N (TRIVELIN et al., 1988).

Tabela 4.2 - Biomassa (g planta<sup>-1</sup>), N-total (mg planta<sup>-1</sup>), N na planta proveniente do fertilizante (NDFP) e eficiência do uso de N (EUN) avaliados pela técnica com <sup>15</sup>N de fertilizantes: Ureia, Ureia+AH, Ureia+SH, aplicados às folhas de cana-de-açúcar no **Experimento 2** com a cultivar de cana-de-açúcar **CP78-1628**. Cada valor é média de quatro repetições

Parâmetros	Tratamentos	Tempo após a aplicação dos fertilizantes (horas)							
		1	3	6	24	96	192	360	720
Biomassa (mg planta <sup>-1</sup> )	Controle	10,4	9,4	9,8	9,6	11,2	14,2	20,8 a	48,0
	Ureia	9,8	8,9	9,5	10,8	11,1	13,8	15,6 b	52,6
	Ureia+AH	10,4	9,1	8,9	10,5	10,9	13,3	22,6 a	59,3
	Ureia+SH	10,4	8,7	9,3	9,2	9,8	12,2	23,2 a	56,5
	Pr>F	0,93 <sup>ns</sup>	0,50 <sup>ns</sup>	0,09 <sup>ns</sup>	0,13 <sup>ns</sup>	0,27 <sup>ns</sup>	0,07 <sup>ns</sup>	<0,01*	0,07 <sup>ns</sup>
N total (mg plant <sup>-1</sup> )	Controle	225	179	208	200	204	248	279ab	305
	Ureia	184	171	207	229	235	254	263 b	329
	Ureia+AH	230	191	200	222	230	255	305a	353
	Ureia+SH	217	192	197	215	230	261	337 a	348
	Pr>F	0,2 <sup>ns</sup>	0,2 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	0,2 <sup>ns</sup>	0,12 <sup>ns</sup>	0,04*	0,2 <sup>ns</sup>
NPPF (mg planta <sup>-1</sup> )	Ureia	6,6 c	7,9 b	12,6	15,6	10,4 b	11,4 b	14,1	9,3 b
	Ureia+AH	13,4 a	11,3 a	14,5	14,9	11,4 b	12,7 ab	15,7	11,3 ab
	Ureia+SH	10,0 b	7,6 b	12,4	15,6	14,3 a	14,7 a	14,9	16,8 <sup>a</sup>
	Pr>F	<0,01*	<0,01*	0,09 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>ns</sup>	<0,01*	<0,01*	0,2 <sup>ns</sup>	<0,01*
	Ureia	12 c	15 b	23	29	19 b	21b	22	17 b
EUN (%)	Ureia+AH	25 a	21 a	27	28	21 b	24 ab	29	21 ab
	Ureia+SH	19 b	14 b	23	29	26 a	27 a	28	31 a
	Pr>F	<0,01*	<0,01*	0,08 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>ns</sup>	<0,01*	<0,05*	0,2 <sup>ns</sup>	<0,01*

ns:não significativo; \* significativo a 5 % de probabilidade pelo teste F. Letras diferentes indicam diferenças entre tratamentos na mesma época de avaliação de acordo com o teste LSD.

A ureia pode ultrapassar a superfície foliar, tanto pela cutícula como pelos estômatos (OOSTERHUIS, 2009; EICHERT; FERNÁNDEZ, 2012). A penetração de fertilizante pela cutícula da folha por um processo passivo é impulsionada pela diferença de concentração entre a superfície e o interior da folha (EICHERT; FERNÁNDEZ, 2012). Quando ocorre aumento da umidade relativa do ar, diminui a concentração de soluto e aumenta a absorção de água pela cutícula e, portanto, a permeabilidade de solutos polares (RIEDERER; SCHNEIDER, 1990; POPP et al., 2005; OOSTERHUIS, 2009). Seguindo esta lógica, o spray de água após a

aplicação de fertilizantes realizada todas as manhãs pode ter favorecido a absorção do fertilizante  $^{15}\text{N}$  no experimento 1 pela cana-de-açúcar (Tabelas 4.1 e 4.2). Um aumento da umidade do ar de 50% de saturação pode aumentar a permeabilidade de cutículas por duas ordens de magnitude (EICHERT; FERNÁNDEZ, 2012). Adicionalmente outros efeitos podem ser a diferença entre cultivares de cana-de-açúcar, no experimento 1 foi utilizada a RB855453, enquanto no experimento 2 foi a CP78-1628 (Tabelas 4.1 e 4.2). As cultivares podem apresentar diferentes quantidades de cera nas folhas. Bondada et al. (1997) demonstraram que a absorção  $^{15}\text{N}$  diminuiu em conjunto com o aumento da concentração total de cera em folhas de algodoeiro, e talvez efeito similar pode ter ocorrido neste experimento.

Houve efeito significativo da SH e AH em NPFF e EUN como revelado pelo  $\text{Pr} > \text{F}$  (Tabelas 4.1 e 4.2), a cana-de-açúcar tratada com ureia + SH ou ureia + AH apresentou valores acima de 15% na absorção de N quando comparada com a cana-de-açúcar tratada somente com ureia. Em 96 horas após aplicação dos fertilizantes, o tratamento com ureia + AH mostrou maior recuperação de N, no entanto, quando foi aplicada as SH este efeito se destacou. A comparação entre ureia e a mistura com ureia + AH ou ureia + SH revelou que ambos (AH e SH) aumentam a EUN nas folhas de cana-de-açúcar. Um destaque especificamente para o tratamento de ureia + SH, em que foi observado um aumento de 11% de EUN. As SH aumentaram a absorção do N fertilizante; este efeito pode ser explicado pela indução do SH na atividade da  $\text{H}^+$ -ATPase. Esta enzima favorece a entrada de íons na célula, sendo esse papel bem conhecido. As  $\text{H}^+$ -ATPases favorecem um gradiente eletroquímico necessário para energizar o transporte de íons para a absorção celular e induzir o crescimento celular por um mecanismo conhecido como crescimento ácido (NARDI et al., 2002; CANELLAS et al., 2012). Este efeito atua como o intermediário entre auxina e o afrouxamento da parede celular pelo mecanismo de exsudação de  $\text{H}^+$  (NARDI et al., 2007; ZANDONADI et al., 2007; CANELLAS et al., 2010). No caso do milho (*Zea mays L.*), a indução de  $\text{H}^+$ -ATPase foi estudada por Canellas et al. (2010). Estes autores mostraram que as SH estimularam a atividade PM  $\text{H}^+$ -ATPase. Quando a SH foi aplicada em raízes de milho, a atividade da enzima aumentou, variando de 42% e 36%, respectivamente, por 7 e 45 dias depois da aplicação, chegando a valores médios de 2,55 e 1,28  $\mu\text{mol Pi mg Prot}^{-1} \text{ min}^{-1}$ , respectivamente.

O efeito sobre EUN e NPFF para a ureia + SH foi maior do que a ureia + AH. Por exemplo, o EUN após 192 horas, nos dois experimentos foi significativamente maior para ureia+SH (69% e 27%) com incremento significativo de 30% e 12%, respectivamente em comparação com ureia+AH (53% e 24%). A mistura com ureia + SH é mais eficiente para aumentar a absorção  $^{15}\text{N}$  de ureia. Uma das razões, é porque quando ocorre a mistura da ureia com SH, ainda em solução, antes da aplicação na folha, a ureia pode sofrer a hidrólise e transformar em  $\text{NH}_4^+$ . No experimento de laboratório discutido no capítulo 2 desta tese, mostrou que a solução com 5% de N-ureia quando está em mistura com SH, 70% deste N-ureia está na forma de N- $\text{NH}_4^+$ . Assumimos que somente as SH pode transformar a ureia em N- $\text{NH}_4^+$  antes da aplicação, considerando que os AH foi purificado por diálise e liofilização (secagem a frio), processo que pode inativar a enzima urease (KRAJEWSKA, 2009). Assim, como a aplicação foliar com ureia + SH pode fornecer parte do N- $\text{NH}_4^+$ , as SH podem aumentar a atividade da  $\text{H}^+$ -ATPase e favorecer a entrada de íons pelo equilíbrio quimiosmótico na célula (NARDI et al., 2002; CANELLAS et al., 2012). Além disso, o diâmetro de íon hidrato, por exemplo, N- $\text{NH}_4^+$  é inferior a 1 nM podendo ajudar sua penetração pela cutícula, enquanto os compostos orgânicos, tal como a ureia tem um diâmetro maior dificultando a entrada na célula (POPP et al., 2005; EICHERT; FERNÁNDEZ, 2012). Resumidamente, pode-se dizer que a aplicação da mistura com ureia + SH é mais eficiente do que somente ureia e ou ureia + AH devido dois processos: 1) parte do N-ureia em uma mistura (ureia + SH) é aplicado como  $\text{NH}_4^+$  e 2) o aumento da atividade de  $\text{H}^+$ -ATPase pode se beneficiar da entrada de íon  $\text{NH}_4^+$  pelas folhas de cana-de-açúcar.

Conteúdos de amido e de carboidratos foram significativamente maiores para as plantas do controle com valores que variam, respectivamente, de 85 a 160  $\text{mg g}^{-1}$  de tecido seco em comparação com outros tratamentos (Figura 4.1). O açúcar total não segue um padrão semelhante em todos os tratamentos durante os tempos de amostragens. Em contraste, o conteúdo de proteína total de folhas de cana-de-açúcar do controle diminuiu em comparação com outros tratamentos nas últimas avaliações (96, 192, 360 e 720 horas após fertilização) (Figura 4.1).



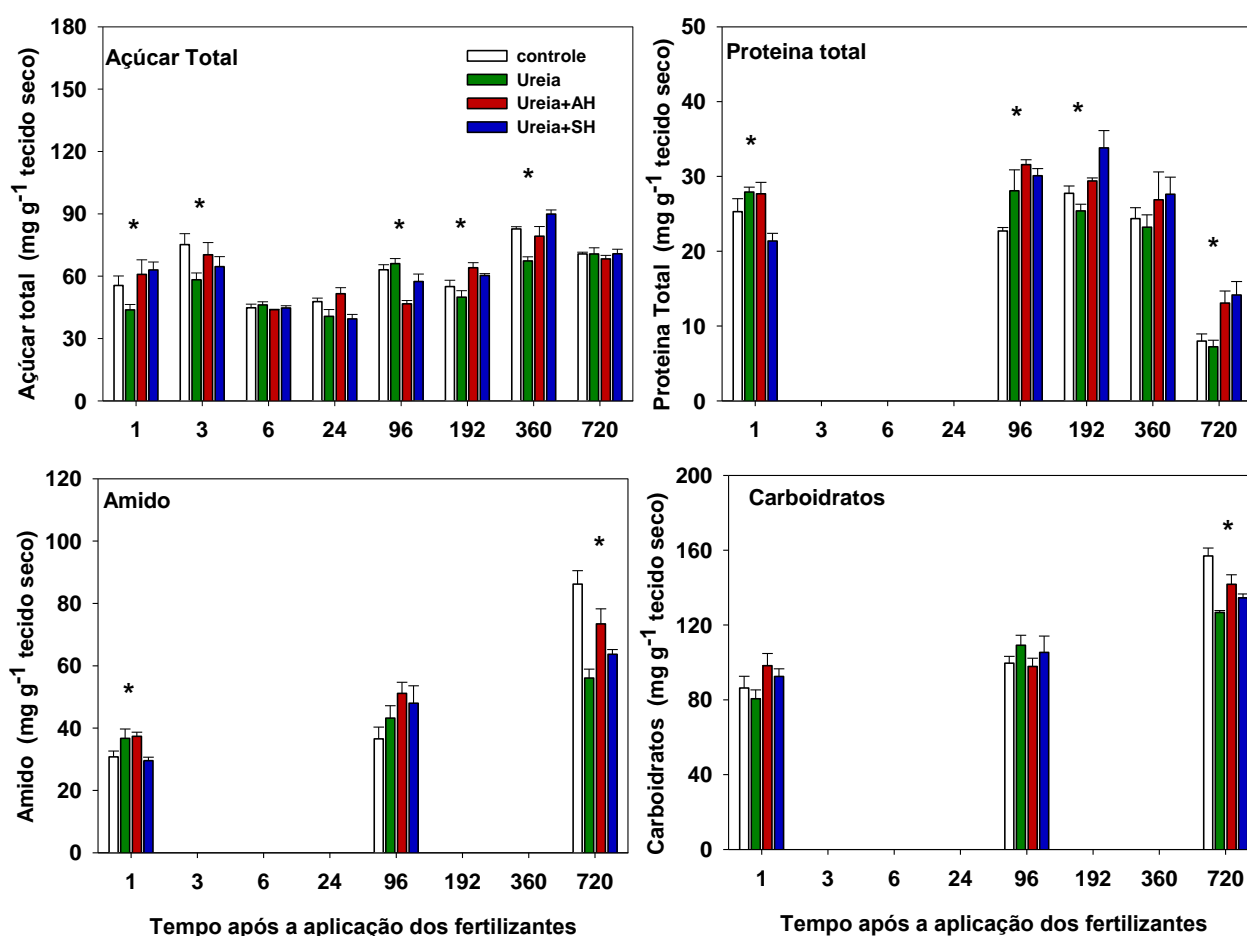


Figura 4.1 - Açúcar total, proteína total, amido e carboidrato nas folhas de cana-de-açúcar após a aplicação de solução de Ureia, Ureia+AH, Ureia+SH em casa de vegetação no cultivar **CP78-1628**. \* indicam diferença entre tratamentos no mesmo tempo de aplicação dos fertilizantes pelo ANOVA (5%).

A aplicação foliar de ureia + SH ou ureia + AH aumentou significativamente o conteúdo de proteína total nas folhas em relação aos tratamentos ureia e controle (sem adição de N). Para as quatro últimas avaliações, a aplicação de ureia foliar + SH aumentou os valores totais de proteína na ordem de 31, 33, 27, e 14 mg g<sup>-1</sup> de tecido seco, respectivamente, enquanto os valores de tratamento ureia variando de 28, 25, 23, e 7 mg g<sup>-1</sup> de tecido seco de proteína total. Em média, a adubação foliar de ureia + SH aumentou o total dos valores de proteína (7%, 24%, 17% e 93%) quando comparada com somente ureia foliar (Figura 4.1). Resultados semelhantes foram quantificados por Ertani et al. (2011) quando aplicaram AH sobre as plantas de milho e mediram a atividade da proteína RUBISCO. Esses autores descobriram que a RUBISCO foi estimulada pela aplicação de SH em comparação com os

controles por 65% e 93% em raízes e folhas de plantas de milho, respectivamente, equanto a aplicação SH aumento a atividade da glutamina sintetase em 30% na dose de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de C em cerca de 20% a 1 mg L<sup>-1</sup> de C (ERTANI et al. 2011). No estudo citado anteriormente, as SH foram caracterizadas pela sua composição química e por suas características estruturais que podem ser considerados típicos para derivados de lignitos (ERTANI et al., 2011). Diferentes fontes de SH podem promover efeitos similares na planta. Este efeito pode ser influenciado principalmente pelo grau de humificação dos AH (ROSE et al., 2014). Neste estudo as SH e os AH foram extraídos de turfa, apesar de serem de diferentes fontes, os resultados de proteínas foram semelhantes aos estudos comparados com Ertani et al. (2011).

Ertani et al. (2013) trabalharam com SH extraídas de quatro resíduos (*Brassica napus*), mamona (*Ricinus communis*), linho (*Linum usitatissimum*), e de vermi-compostos. Estes quatro extratos de SH foram aplicados na solução de nutrição do milho e avaliados após 48 horas. Os autores observaram que os quatro extratos do SH induziram diminuição no teor de nitrato e incremento no teor de proteínas, tanto nas raízes como em folhas. Além disso, Canellas et al. (2012) verificaram aumento da atividade de nitrato redutase (NR) e glutamina sintetase (GS) em folhas e raízes de plantas de milho por SH extraídas de vermicomposto do esterco bovino. O aumento das atividades de GS e NR indicou o efeito de SH no incremento de proteína total. Estas enzimas tinham aumento da atividade sob pH baixo, o que é compatível com o PM H<sup>+</sup>-ATPase de indução por substâncias húmicas (CANELLAS et al., 2002, 2012; ZANDONADI et al., 2007). Em síntese, SH de diferentes fontes podem influenciar positivamente sobre o metabolismo do N, aumentando o teor de proteína e o N metabolicamente ativo nas folhas (CANELLAS et al., 2014; ROSE et al., 2014).

Canellas et al. (2012) observaram efeitos positivos de SH sobre o conteúdo de amido e carboidratos de folhas e raízes de milho. No entanto, neste estudo ocorreu o oposto; o tratamento controle apresentou maior conteúdo de amido e carboidratos no tempo de final de amostragem (Figura 4.1). Possivelmente, a aplicação em conjunto com N e SH acelerou o metabolismo e a assimilação de N e teve maior demanda de C para assimilar em aminoácidos. O C foi proveniente do consumo do alfa-cetoglutarato do ciclo de GS / GOGAT o que pode ter reduzido o teor de amido e de carboidratos totais nos tratamentos com SH e AH (LEA et al.,

2007; ERTANI et al., 2011.). Outras SH comerciais lignosulfonato-humate têm mostrado efeito na assimilação do nitrogênio e do ciclo de Krebs (MORA et al., 2010; ERTANI et al., 2011). Pode-se assumir que a mistura de SH com ureia pode alterar o metabolismo simultaneamente do ciclo de C e N em plantas.

A fotossíntese em determinados tempos de amostras (horas) foi significativamente aumentada para todos os tratamentos ureia, ureia + SH, ureia + AH em relação ao controle, exceto para o tempo de 3 horas após a aplicação de fertilizantes (Figura 4.2). A mistura de ureia + AH, aumentou a taxa fotossintética líquida no final dos tempos de amostragem, enquanto no início o tratamento com ureia foi superior. Para os parâmetros de condutividade e taxa de transpiração estomática, a mesma tendência foi verificada, com aumento significativo para a ureia + tratamento AH. Os resultados indicaram que o AH pode melhorar os parâmetros de fotossíntese. Resultados semelhantes foram encontrados em um estudo mais recente Canellas et al. (2012), descobriram aumento da fotossíntese líquida em aplicação de ácido húmicos e bactérias inoculadas nas plantas de milho. De acordo com Canellas et al. (2012) e Russel et al. (2006), a ativação do H<sup>+</sup>-ATPase é um passo chave que induz à abertura estomática em resposta a uma variedade de estímulos hormonais, incluindo a auxina.

Resumindo, a adubação foliar tem como vantagens o baixo custo e a resposta rápida da planta, sendo ainda particularmente importante quando ocorrem problemas de solo e o crescimento de raízes é insuficiente para absorver os nutrientes (OOSTERHUIS, 2009; EICHERT; FERNÁNDEZ, 2012). Os resultados deste trabalho sugerem que a adubação foliar com ureia + SH é uma estratégia interessante para complementar a adubação de solo de cana-de-açúcar. Quando aplicada pode melhorar a absorção de N e simultaneamente, aumentar a fotossíntese e proteína total. Os efeitos do SH no processo metabólico da planta têm sido extensivamente estudados em outras culturas (NARDI et al., 2002; TREVISAN et al., 2011; ERTANI et al., 2011; CANELLAS et al., 2012). Neste trabalho ficou evidente a influência da SH e ureia no metabolismo do C e N nas plantas de cana-de-açúcar. Este efeito é destacado no último tempo de amostragem (Tabela 4.2, Figuras 4.1 e 4.2). As alterações detectadas foram por uma maior absorção de N, carboidratos, teor de amido, conteúdo de proteína total que induziram as plantas a respostas fisiológicas relacionadas ao aumento da fotossíntese. Esses processos podem promover o crescimento da planta com o aumento do metabolismo de C e N

(NARDI et al., 2007; CANELLAS et al., 2012, 2014). A aplicação da mistura com ureia + SH pode melhorar EUN e esse efeito pode ser destacado com a pulverização foliar de água para reidratar o fertilizante sobre a folha, conforme destacado por Trivelin et al. (1988).

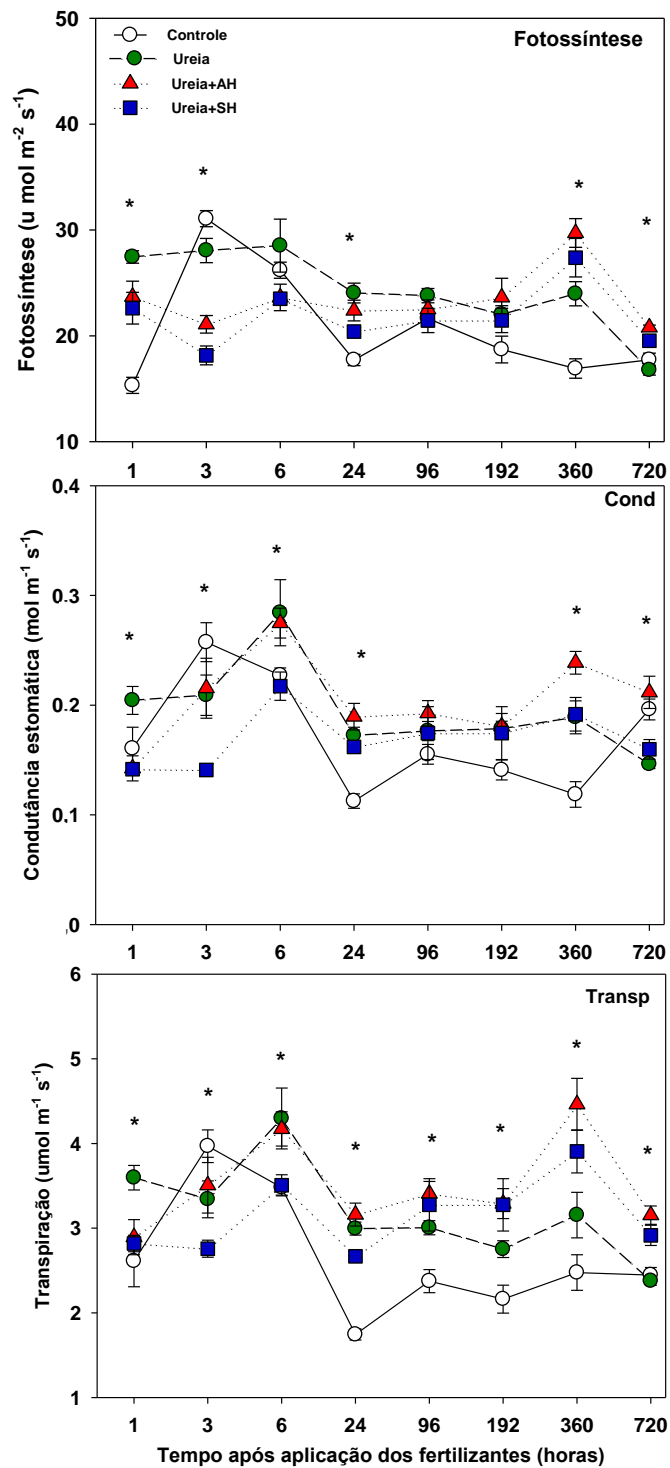


Figura 4.2 - Fotossíntese, condutância estomática e transpiração nas folhas de cana-de-açúcar após a aplicação de solução de Ureia, Ureia+AH,

Ureia+SH em casa de vegetação no cultivar **CP78-1628**. \* indicam diferença entre tratamentos no mesmo tempo de aplicação dos fertilizantes pelo ANOVA (5%).

#### 4.4 Conclusão

Este trabalho evidenciou que o N proveniente da aplicação foliar de SH + ureia e AH + ureia é rapidamente absorvido pelas folhas de cana-de-açúcar, com maior efeito na mistura SH+ureia. A fração húmica induz mudanças no conteúdo de carboidratos totais, amido e de proteína total, sugerindo um efeito sinérgico de SH e de ureia, que promove o aumento do metabolismo C e N nas plantas de cana-de-açúcar.

#### Referências

- BARRIE, A.; PROSSER, S.J. Automated analysis of light-element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry. In: BOUTTON, T.W.; YAMASAKI, S. (ed.) **Mass spectrometry of soils**. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 1-46.
- BASANTA, M.V.; DOURADO-NETO, D.; REICHARDT, K.; BACCHI, O.O.S.; OLIVEIRA, J.C.M.; TRIVELIN, P.C.O.; TIMM, L.C.; TOMINAGA, T.T.; CORRECHEL, V.; CASSARO, F.A.M.; PIRES, L.F.; MACEDO, J.R. Management effects on nitrogen recovery in a sugarcane crop grown in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 116, p. 235-248, 2003.
- BONDADA, B.R.; OOSTERHUIS, D.M.; NORMAN, R.J. Cotton leaf age, epicuticular wax, and nitrogen-15 absorption. **Crop Science**, Knoxville, v. 37, p. 807-811, 1997.
- CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, Napoli, v. 1, p. 1-11, 2014.
- CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.O.; OLIVARES, F.L.; FAÇANHA, A.R. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. **Plant Physiology**, London, v. 130, p. 1951-1957, 2002.
- CANELLAS, L.P.; PICCOLO, A.; DOBBSS, L.B.; SPACCINI, R., OLIVARES, F.L.; ZANDONADI, D.B.; FACANHA, A.R. Chemical composition and bioactivity properties of size fractions separated from a vermicompost humic acid. **Chemosphere**, Oxford, v. 78, p. 457-466, 2010.

CANELLAS, L.P.; MARTÍNEZ, B.D.; MÉDICI, L.O.; AGUIAR, N.O.; CAMPOSTRINI, E.; ROSA, R.C.; FAÇANHA, A.R.; OLIVARES, F.L. A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 66, p. 119-132, 2012.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O.; CONTIN, T.L.M.; DIAS, F.L.F.; ROSSETTO, R.; MARCELINO, R.; COIMBRA, R.B.; QUAGGIO, J.A. Ammonia volatilization from urease inhibitor-treated urea applied to sugarcane trash blankets. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, p. 397-401, 2008.

CHIEN, S.H.; PROCHNOW, L.I.; CANTARELLA, H. Recent developments of fertilizer production and use to improve nutrient efficiency and minimize environmental impacts. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 102, p. 267-322, 2009.

DAWAR, K.; ZAMAN, M.; ROWARTH, J.S.; BLENNERHASSETT, J.; TURNBULL, M.H. Urea hydrolysis and lateral and vertical movement in the soil: effects of urease inhibitor and irrigation. **Biology and Fertility of Soils**, Tauranga, v. 47, p. 139-146, 2011.

EICHERT, T.; FERNÁNDEZ, V. Uptake and release of mineral elements by leaves and other aerial plant parts. In: MARSCHNER, E.; **Mineral nutrition of higher plants**. 3<sup>rd</sup> ed. Cidade: Academic Press, 2012. p. 71-84.

ERTANI, A.; FRANCIOSO, O.; TUGNOLI, V.; RIGHI, V.; NARDI, S. Effect of commercial lignosulfonate-humate on *Zea mays* L. metabolism. **Jornal of Agricultural and Food Chemistry**, Legnaro, v. 59, p. 11940-11948, 2011.

ERTANI, A.; PIZZEGHELLO, D.; BAGLIERI, A.; CADILI, V.; TAMBONE, F.; GENNARI, M.; NARDI, S. Humic-like substances from agro-industrial residues affect growth and nitrogen assimilation in maize (*Zea mays* L.) plantlets. **Jornal of Geochemical Exploration**, Catania, v. 129, p. 103-111, 2013.

FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C. Enhancing nitrogen in crop plants. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 88, p. 97-185, 2005.

FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, E.C.A.; TRIVELIN, P.C.O. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer in Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 121, p. 29-41, 2011.

GALLOWAY, J.N.; DENTENER, F.J.; CAPONE, D.G.; BOYER, E.W.; HOWARTH, R.W.; SEITZINGER, S.P.; ASNER, G.P.; CLEVELAND, C.C.; GREEN, P.A.; HOLLAND, E.A.; KARL, D.M.; MICHAELS, A.F.; PORTER, J.H.; TOWNSEND, A.R.; VÖ RÖSMARTY, C.J. Nitrogen cycles: past, present, and future. **Biogeochemistry**, Oxford, v. 70, p. 153-226, 2004.

JONES, D.L.; KIELLAND, K.; Soil amino acid turnover dominates the nitrogen in permafrost-dominated taiga forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 34, p. 209-219, 2002.

KANT, S.; YONG-MEI B.; STEVEN J.R.; Understanding plant response to nitrogen limitation for the improvement of crop nitrogen use efficiency. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, p. 1499-1509, 2011.

KINGSTON, G. Mineral nutrition of sugarcane. In: MOORE, P.H.; BOTHA, F.C. (Ed.). **Sugarcane: physiology, biochemistry, and functional biology**. Oxford: John Wiley, 2014. p. 85-120.

KRAJEWSKA, B. Ureasas I: functional, catalytic and kinetic properties; a review, **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 59, p. 9-21, 2009.

LEA. P.J.; AZEVEDO, R.A. Nitrogen use efficiency. 2. Amino acid metabolism. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 151, p. 269-275, 2007.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

MORA, V.; BACAICOA, E.; ZAMARREÑO, A.M.; AGUIRRE, E.; GARNICA, M.; FUENTES, M.; GARCIA-MINA, J.M. Action of humic acid on promotion of cucumber shoot growth involves nitrate-related changes associated with the root-to-shoot distribution of cytokinins, polyamines and mineral nutrients. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 167, p. 633-642, 2010.

MUSCOLO, A.; SIDARI, M.; NARDI, S. Humic substance: relationship between structure and activity. Deeper information suggests univocal findings. **Journal Geochemical Exploration**, Amsterdam, v. 129, p. 57-63. 2013.

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A.; VIANELLO, A. Physiological effects of humic substances on higher plants. **Soil Biological & Biochemistry**, Oxford, v. 34, p. 1527-1536, 2002.

NARDI, S.; MUSCOLO, A.; VACCARO, S.; BAIANO, S.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A. Relationship between molecular characteristics of soil humic fractions and glycolytic pathway and Krebs cycle in maize seedlings. **Soil Biological & Biochemistry**, Oxford, v. 39, p. 3138-3146, 2007.

OOSTERHUIS, D. Foliar fertilization: mechanisms and magnitude of nutrient uptake. FLUID FERTILIZER FOUNDATION MEETING IN SCOTTSDALE, 1, 2009, Arizona. **Pape for the Fluid fertilizer**, Arizona, Derrick, O.; 2009. p. 1-7.

POPP, C.; BURGHARDT, M.; FRIEDMANN, A.; RIEDERER, M.; Characterization of hydrophilic and lipophilic pathways of *Hedera helix* L. cuticular membranes: permeation of water uncharged organic compounds. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, p. 2797-2806, 2005.

PURMALIS, O; KLAVINS, M. Formation and changes of humic acid properties during peat humification process within ombrotrophic bogs. **Open Journal of Soil Science**, Hubei, v. 2, p. 100-110, 2012.

QUAGGIOTTI, S.; RUPERT, B.; PIZZEGHELLO, D.; FRANCIOSO, O.; TUGNOLI, V.; NARDI, S. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 803-813, 2004.

RIEDERER, M.; SCHNEIDER, G. The effect of the environment on the permeability and composition of citrus leaf cuticles: II. Composition of soluble cuticular lipids and correlation with transport properties. **Planta**, New York, v. 180, p.154–165, 1990.

ROSE, M.T.; PATTI, A.F.; LITTLE, K.R.; BROWN, A.L.; JACKSON, W.R.; CAVAGNARO, T.R. A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 124, p. 37-89, 2014.

ROBERTS, T.L. Improving nutrient use efficiency. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Atlanta, v. 32, p. 177-182, 2008.

RUSSELL, L.; STOKES, A.R.; MACDONALD, H.; MUSCOLO, A.; NARDI, S. Stomatal responses to humic substances and auxin are sensitive to inhibitors of phospholipase A2. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 283, p. 175–185, 2006.

STEVENSON, F.J. Extraction, fractionation and general chemical composition of soil organic matter. In: \_\_\_\_\_. **Humus chemistry**. New York: John Wiley, 1982. p. 23-56.

TREVISAN, S.; BOTTON, A.; VACCARO, S.; VEZZAROA, A.; QUAGGIOTTI, S.; NARDIA, S. Humic substances affect Arabidopsis physiology by altering the expression of genes involved in primary metabolism, growth and development. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 74, p. 45–55, 2011

TRIVELIN, P.C.O.; CARVALHO, J.G.; SILVA, A.Q.; PRIMAVESI, A.C.P.; CAMACHO, E.; EIMORI, I.E.; GUILHERME, M.R. Adubação foliar de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp), absorção e translocação de ureia-15N. **Energia Nuclear e Agricultura**, Piracicaba, v. 9, p. 52-65, 1988.

VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; FRANCO, H.C.J.; BOLOGNA, I.R.; FARONI, C.E. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada à localização de adubos nitrogenados aplicados sobre resíduos culturais em canavial sem queima. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 491-498, 2007.

WITTE, C.P. Urea metabolism in plants. **Plant Science**, Amsterdam, v. 180, p. 431-438, 2011.

ZANDONADI, D.B.; CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H<sup>+</sup> pumps activation. **Planta**, New York, v. 225, p. 1583-1595, 2007.





## 5 ACÚMULO E PARTICIONAMENTO DE NUTRIENTES EM SOQUEIRAS DE CANA-DE-AÇÚCAR

### Resumo

Relações nutricionais na planta como N:P e N:K podem ser empregados em diagnósticos de desequilíbrios nutricionais em soqueiras de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). O principal objetivo deste estudo foi estimar o acúmulo de biomassa e dos nutrientes (N, P e K), bem como o particionamento destes em soqueiras de cana-de-açúcar com diferentes níveis de produtividade (baixo, médio e alto). Experimentos foram conduzidos em três solos tropicais localizados no Estado de São Paulo. Para estimar a biomassa e absorção de N, P e K realizaram-se quatro amostragens da parte aérea ao longo do ciclo da cultura. Estimou-se o particionamento de NPK nos componentes: colmo, folhas secas, ponteiros e parte aérea total. Avaliaram ainda eficiência interna (produtividade em relação à absorção de nutrientes) e a relação de nutrientes (N:P e N:K) na cana-de-açúcar comparando com diferentes níveis de produtividade de colmo. A cana-de-açúcar exibiu três fases distintas de crescimento, como se segue: fase de crescimento inicial, fase exponencial linear e a fase final (acúmulo de açúcar). A quantidade de nutrientes necessária para produzir uma tonelada de colmos foi de 1,45 kg de N, 0,24 kg de P, e 2,70 kg de K, a exportação destes nutrientes variaram de acordo com teores no solo e com demanda da cultura (potencial de produtividade). No particionamento de N:P e N:K nas folhas secas apresentaram menores teores em relação ao ponteiro e colmo. Melhores produtividades de colmo foram obtidas na proporção de N:P (6:1) em ponteiro de cana-de-açúcar, contribuindo para o elevado acúmulo destes nutrientes. Por fim, para sistemas com altas produtividades foi observado aumento do acúmulo de nutriente e maior equilíbrio da relação de N:P (6:1) e N:K (0,5:1).

Palavras-chave: Absorção de nutrientes; Nitrogênio; Fósforo; Potássio; Biomassa; *Saccharum* spp.

### Abstract

Plant nutrient ratios can be used as a valuable tool for diagnosing nutrient imbalances for sugarcane ratoon (*Saccharum* spp.). The main goal of this study was to investigate biomass and nutrient (N, P, and K) content and partitioning in sugarcane ratoon at varying sugarcane yield. Three sites were established on tropical acid soils located in the state of São Paulo, Brazil. Seasonal biomass and nutrient uptake patterns were summarized from four sampling times taken throughout the sugarcane ratoon growing season. At all sites, in-season nutrient partitioning (in diverse plant components), internal efficiencies (yield to nutrient uptake ratio) and nutrient ratios (N:P and N:K) were determined at crop harvesting. Sugarcane

exhibited three distinct phases of plant growth, as follows: lag, exponential-linear, and stationary. Nutrient requirement to produce one Megagram (Mg) of stalk yield was 1.45 kg N, 0.24 kg P, and 2.70 kg K, but nutrient removal varied with soil nutrient status (based on soil test plus fertilizer nutrient supply) and crop demand (potential yield). For nutrient partitioning process, dry leaves had lower nutrient content (N, P, and K) and broader N:P/N:K ratios when compared with tops and stalks. Greater sugarcane yield and narrowed N:P ratio (6:1) were documented for tops of sugarcane when increasing both N and P content. High-yielding sugarcane systems were related to higher nutrient content and more balanced N:P (6:1) and N:K (0.5:1) ratios.

Keywords: Nutrient uptake; Nitrogen; Phosphorus; Potassium; Biomass; *Saccharum* spp.

## 5.1 Introdução

Na última década, houve uma ampliação de quatro milhões de hectares de cana-de-açúcar nas regiões Sudeste e Centro-Oeste do Brasil (ADAMI et al., 2012). Um dos motivos para esse aumento foi a substituição da colheita manual pela implementação da colheita mecanizada com manutenção da palhada da cultura no campo que ocorreu por razões ambientais, agrônômicas, sociais e econômicas (LEAL et al., 2013; TRIVELIN et al., 2013). No Brasil, esse sistema é denominado cana-crua, sendo que 80% da cana-de-açúcar é colhida mecanicamente, sem queima prévia (FORTES et al., 2013; LEAL et al., 2013). Especificamente para o Estado de São Paulo, a cana-de-açúcar é colhida em 5 milhões de ha sendo que 85% das operações de colheita em sistema mecanizado (União da Indústria de Cana-de-açúcar - UNICA, 2015).

A introdução desse novo sistema de colheita de cana-de-açúcar sem queima pode modificar as exigências nutricionais das variedades modernas de cana-de-açúcar. Abordagens tradicionais de nutrição mineral de cana-de-açúcar apresentam-se com ênfase na produtividade econômica e na nutrição (KINGSTON, 2014). O equilíbrio nutricional exige que todos os nutrientes sejam necessários para o crescimento e maturação da cana-de-açúcar (MALAVOLTA et al., 1997; KINGSTON, 2014). Os nutrientes N e K são amplamente exigidos pela cana-de-açúcar e as extrações destes variam de 150 a 400 kg ha<sup>-1</sup> (SILVA; CASAGRANDE, 1983; SHUKLA et al., 2009; OLIVEIRA, 2011) para produtividade de colmos variando de

70-180 Mg ha<sup>-1</sup>. O N é um dos principais constituintes de ácidos nucleicos, proteínas, enzimas, e clorofila, que promovem o crescimento e perfilhamento da cultura (KINGSTON, 2014). O K é o nutriente absorvido em maior quantidade pela cana-de-açúcar (SHUKLA et al., 2009; OLIVEIRA, 2011), e desempenha papel fundamental na regulação osmótica, sendo importante para a extensão celular, movimento estomático, e atua na ativação de cinquenta enzimas envolvidas no metabolismo da cana-de-açúcar (MALAVOLTA et al., 1997; SHUKLA et al., 2009; KINGSTON, 2014). O P é um elemento constituinte de ácidos nucleicos, essenciais para perfilhamento e crescimento de raízes e perfilhos, atuando ainda na transferência de energia na planta nas formas de ATP para ADP e em todo o processo fotossintético do vegetal (MALAVOLTA et al., 1997; KINGSTON, 2014). Nos solos ácidos tropicais, que são maioria nas condições brasileiras, o monitoramento e fornecimento de N, P e K são essenciais para garantir elevados rendimentos de colmo no sistema de colheita mecanizada sem queima prévia (FRANCO et al., 2011; OLIVEIRA, 2011; TRIVELIN et al., 2013).

O particionamento de N:K e N:P para avaliar o estado nutricional da cultura não é uma nova ferramenta. A ideia foi proposta por Beaufils e Sumner (1976) e já vem sendo usada em diagnósticos e recomendação do sistema integrado (DRIS) para avaliar os teores e as exigências desses nutrientes pela cana-de-açúcar. Os desequilíbrios desses nutrientes podem ser detectados por meio de uma deficiência DRIS e podem ser diagnosticado de forma segura por meio de valores limiares (BEAUFILS; SUMNER, 1976; MEYER, 1981), devido à instabilidade entre as relações dos nutrientes e as proporções (N:P e N:K) se alterarem durante a fase de desenvolvimento da cana-de-açúcar (MEYER, 1981). Isso ocorre porque existe interação complexa e dinâmica desses elementos dentro do sistema solo-planta (MEYER, 1981; MALAVOLTA et al., 1997; SHUKLA et al., 2009). Além desta complexidade, estes estudos não tratam adequadamente o papel das proporções relativas desses nutrientes em relação aos diferentes níveis de produtividade. Possivelmente, as relações (N:P e N:K) para as plantas se correlacionam com rendimento de colmo no sistema sem queima da palha, na cultura da cana-de-açúcar.

O Brasil é um dos maiores consumidores de fertilizantes no mundo, e apresenta grande tendência de aumento da demanda de nutrientes para o futuro (INTERNATIONAL PLANT NUTRITION INSTITUTE - IPNI, 2015). No entanto, o país

depende fortemente do mercado internacional de fertilizantes, especialmente para N (78%) e K (90%). Uma estratégia para reduzir essa dependência é aumentar a eficiência do uso de nutrientes (EUN) pelas culturas. Na cana-de-açúcar, pouco se sabe sobre EUN em sistemas de colheita sem queima. Recentemente alguns estudos avaliaram o efeito de fontes de N de fertilizantes e não se obteve efeito na produtividade de colmos (VIEIRA-MEGDA et al., 2015). Otto et al. (2013) verificaram que em seis locais de estudos, apenas um teve alta resposta às doses de fertilizante nitrogenado. Provavelmente, a falta de equilíbrio e a relação de nutrientes (N:P e N:K) podem atuar como fatores limitantes de produtividade em sistema de colheita sem queima. O equilíbrio entre N, P e K pode contribuir para melhorar a EUN. Portanto, as relações de nutrientes nas plantas é um dos indicadores para o diagnóstico de desequilíbrios nutricionais das culturas (CIAMPITTI; VYN, 2014).

Assim posto, o objetivo deste estudo foi estimar o conteúdo de biomassa e de nutrientes (N, P e K), em folhas secas, colmos e ponteiros, e suas relações: N:P, N:K, para soqueiras de cana-de-açúcar com diferentes níveis de produtividade.

## **5.2 Material e Métodos**

### **5.2.1 Áreas experimentais**

Foram realizados três estudos de campo no estado São Paulo, sendo: dois estudos (áreas 1 e 2) na safra 2009/2010 e um terceiro estudo safra de 2013/2014 (área 3), todos cultivados com cana-de-açúcar de primeira soqueira sem queima.

Área 1 localizada na Usina Iracema, município de Piracicaba (22°35'S; 47°37'W), em um Latossolo Vermelho distrófico (EMBRAPA, 2006). Cana planta (cultivar SP89-1115) foi colhida mecanicamente (sem queima) em maio de 2009, aproximadamente 433 dias após o plantio (DAP). Área 2 foi localizada na Usina Abengoa, município de Santa Cruz das Palmeiras (21°47'S; 47 ° 11'W), em um Latossolo Vermelho eutrófico (EMBRAPA, 2006). Cana planta (cultivar SP81-3250) também foi colhida mecanicamente (sem queima) em junho de 2009, cerca de 460 DAP. A Tabela 5.1 apresenta a caracterização dos solos, porém mais detalhes

relacionados às características do solo, histórico de cultivo, e doses de fertilizantes podem ser encontrados em Mariano et al. (2015) e Vieira-Megda et al. (2015).

Área 3 foi localizado na Fazenda Campanelli, município de Severínia (20° 46 'S; 48° 45' W), e o solo foi classificado como Latossolo Vermelho eutroférico (EMBRAPA, 2006). A variedade plantada, RB855453, descrito como um material de maturação precoce com alta demanda de nutrientes e água, dando origem a 145 Mg ha<sup>-1</sup> (rendimento de cana) com cobertura de palha com peso seco (resíduo da cana pós-colheita) de 18,2 Mg ha<sup>-1</sup> ( $\pm 3,1$  Mg ha<sup>-1</sup>).

Em todas as áreas experimentais, o ciclo anterior da cultura foi colhida sem queima dos resíduos, deixando uma camada de palha (folhas secas e ponteiros) sobre a superfície do solo. O plantio convencional (aração e gradagem) foi implementado com calcário e gesso aplicados a cada seis anos. Antes do início da instalação dos experimentos, amostras de solo foram coletadas para a caracterização físico-química, a cada 0,20 m de intervalo na profundidade, até 1 m no perfil do solo em cada área experimental (Tabela 5.1). Os fertilizantes N, P, e K foram aplicados ao solo (sobre a palha de cana-de-açúcar, na forma de filete de contínuo), seguindo a recomendação de Spironello et al. (1997). Além disso, na área 3, fora aplicados calcário e gesso conforme Spironello et al. (1997).

Tabela 5.1 - Propriedades físico-químicas em solos cultivados com cana-de-açúcar no Estado de São Paulo

Solo <sup>†</sup>	Profundidade cm	pH	COS <sup>‡</sup> g dm <sup>-3</sup>	P <sup>§</sup> mg dm <sup>-3</sup>	S <sup>§</sup> mg dm <sup>-3</sup>	K <sup>§</sup> mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	Ca <sup>§</sup> mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	Mg <sup>§</sup> mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	Al <sup>¶</sup> mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	CTC <sup>#</sup> mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	SB <sup>††</sup> %	Arg <sup>F</sup> g kg <sup>-1</sup>
Área 1- Usina Iracema												
Latossolo	0-20	4.6	23	29	33	4.3	13	6	5	95.3	24	510
Vermelho distrófico	20-40	4.6	19	29	50	4.6	29	12	5	125.6	36	530
	40-60	4.3	19	5	95	4.9	13	8	11	123.9	21	500
	60-80	4.1	14	2	107	5.5	8	6	13	117.5	17	580
	80-100	4.2	13	1	105	4.0	9	8	13	109	19	530
Área 2-Usina Abengoa												
Latossolo	0-20	5.5	17	8	27	0.7	49	13	0	90.7	69	630
Vermelho eutrófico	20-40	4.8	13	16	92	0.3	33	10	2	85.3	51	630
	40-60	4.6	10	2	116	0.2	19	8	4	69.2	39	640
	60-80	4.7	8	1	117	0.2	16	7	2	57.2	41	660
	80-100	4.9	7	1	113	0.1	16	7	1	57.1	40	660
Área 3-Fazenda Campanelli												
Latossolo	0-20	5.4	9.1	28	12	3.0	18	9	1	49.3	61	299
Vermelho eutrófico	20-40	5.3	6.8	33	30	1.4	15	9	3	46.8	54	226
	40-60	5.2	5.2	3	47	1.0	13	10	2	41.4	58	252
	60-80	5.2	4.6	2	50	0.8	14	10	1	39.0	64	298
	80-100	5.2	4.0	2	49	0.8	12	11	1	33.0	71	275

† Classificação refere-se à Embrapa, 2006.

‡ COS-Carbono Orgânico do Solo, mensurado pelo método Walkey-Black descrito em (van Raij et al., 2001).

§ P, K, Ca e Mg: extraído com resina (van Raij et al., 2001).

¶ Acidez potencial, Al trocável com 1 mol L<sup>-1</sup> KCl (van Raij et al., 2001).

# Capacidade de troca de cátions pH 7.0.

†† Saturação de Bases.

F Análise textural realizada usando o método do hidrômetro (Gee and Bauder, 1986).

## 5.2.2 Avaliação de biomassa e acúmulo de nutrientes

O termo "biomassa" se refere a fitomassa de todos os componentes de plantas de cana-de-açúcar: ponteiros, folhas secas e colmos, que se apresentam acima da superfície do solo. As colheitas e avaliações das plantas foram realizadas seguindo protocolos semelhantes para todas as áreas, e uma descrição completa pode ser encontrada em Mariano et al. (2015). Resumidamente, em cada amostragem as plantas foram colhidas em posições aleatórias no interior das parcelas, em 3 m lineares, 4,5 m<sup>2</sup> (cerca de 30 plantas), e separadas em colmos, folhas secas, e ponteiros, em quatro tempos. As épocas de amostragem da biomassa da planta foram realizadas aos 139, 178, 235 e 330 dias após a colheita

anterior (DAC) na área 1; aos 133, 170, 227 e 331 DAC na área 2; e aos 145, 198, 290 e 380 DAC na área 3. As amostras frescas foram pesadas, em seguida moídas com o auxílio de uma picadora e realizadas subamostragem de cada componente vegetal. Todos componentes foram pesados e armazenados em estufa a temperatura controlada (65 °C) por 72 h, seguido de moagem em moinho de tecidos Wiley. Determinou-se a concentração total de N, P e K ( $\text{g kg}^{-1}$ ) nos colmos, folhas secas e ponteiros, segundo Malavolta et al. (1997). O acúmulo de biomassa da parte aérea total (expressa em  $\text{Mg ha}^{-1}$ ) foi determinada a partir da soma de todos os componentes de plantas amostradas em cada parcela. O acúmulo total de N, P, e K ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) de cada componente vegetal foi calculado multiplicando-se a concentração do nutriente por respectivo acúmulo de biomassa (em peso seco). O acúmulo final de biomassa ou de nutrientes ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) foi estimado com base na última data de amostragem realizada. O rendimento de colmos ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) foi estimado com base na matéria fresca de colmos amostrados nos 3 m, para a última época de amostragem em todos os experimentos.

Informações meteorológicas (precipitação pluviométrica diária e temperaturas mínima e máxima do ar) também foram obtidas em todas os locais de estudo (Figura 5.1).

### 5.2.3 Biomassa e particionamento de nutrientes

O acúmulo de biomassa e o particionamento de nutrientes nos componentes da parte aérea da cana-de-açúcar (colmo, folha seca e ponteiro) foram obtido através da função de regressão de crescimento (equação logística sigmóide) com os dados observados a partir das datas de amostragem. O tempo foi expresso como graus dias crescentes (GDDS), e foram calculados como o acúmulo dos valores diários de temperatura média  $[(\text{temp. min.} + \text{temp. máx.}) / 2]$  subtraído da temperatura base (tb), que para cana-de-açúcar o valor apropriado de tb foi de 12 °C de acordo com Allison et al. (2007). O índice de colheita foi obtido dividindo a produção de massa seca de colmos por biomassa total da parte aérea da cana-de-açúcar, considerando todos na mesma unidade.



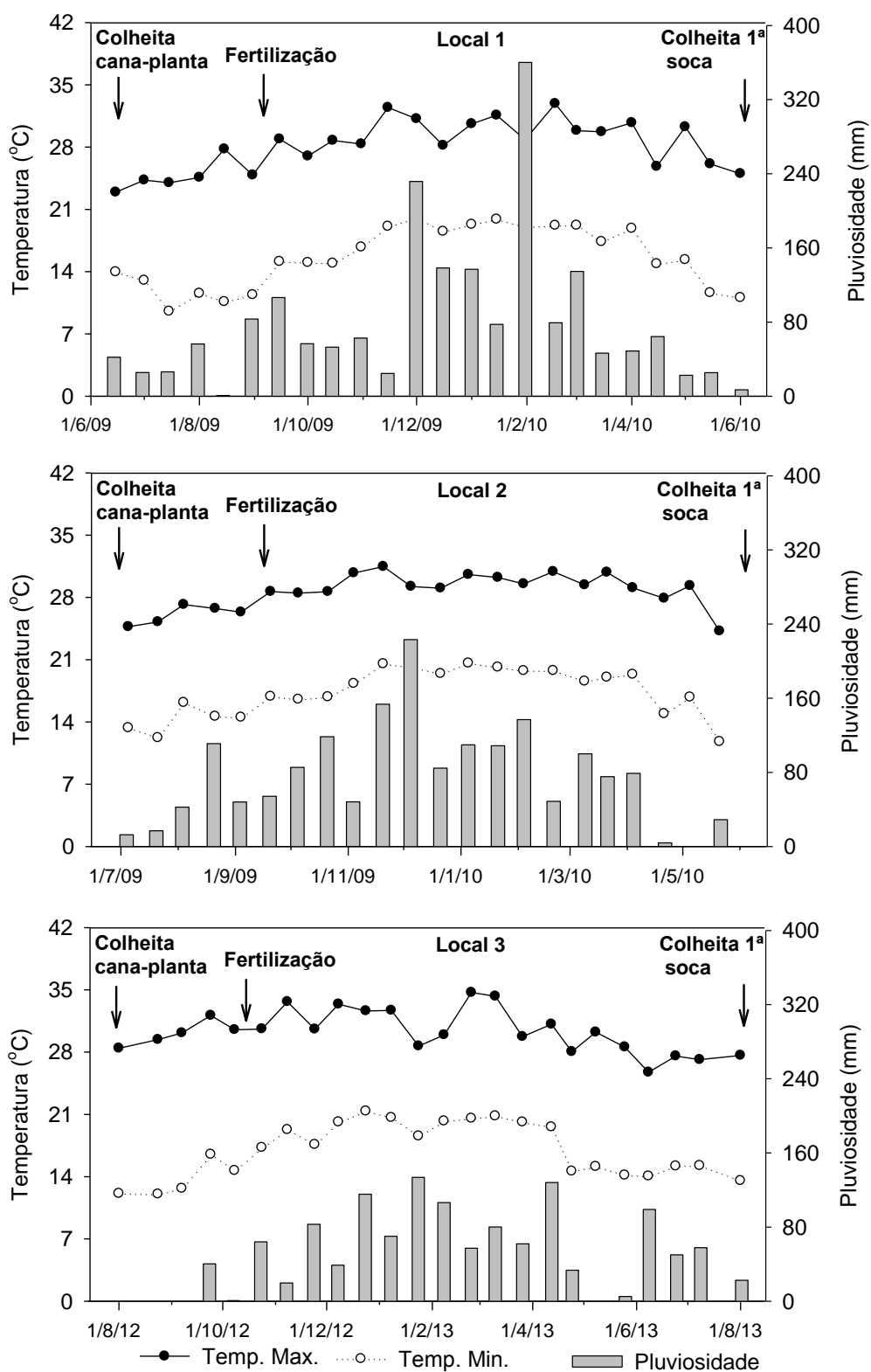


Figura 5.1 - Temperatura máxima, temperatura mínima do ar e pluviosidade quinzenal durante o período experimental nas três áreas de cana-de-açúcar

#### 5.2.4 Análises estatísticas

A função logística sigmóide foi usada para estimar a biomassa e acúmulo de nutrientes e foi obtida pelo software SigmaPlot (versão 11.0, Systat Software Inc., San Jose, CA, EUA) (Figura 5.2). Para todos os parâmetros estudados, a estatística descritiva foi determinada através de cálculo da média, desvio padrão, mínimo, máximo e 25-75% quartil (Tabela 5.2). Regressões lineares para o acúmulo total de nutrientes e de extração (N, P e K) versus o rendimento de colmo foram realizadas com o software SigmaPlot. Relações entre o conteúdo de N e de P na parte aérea total da planta foi realizado e o fator de produtividade de colmos foi implementado como um terceiro componente (tamanhos das bolhas) na análise (Figura 5.4).

### 5.3 Resultados e discussão

#### 5.3.1 Condições climáticas

Durante o período experimental, a pluviosidade variou 1,310 mm (área 3) a 1860 mm (área 1), sendo que cerca de 75% da precipitação ocorreu durante a estação quente, a partir de setembro até março em todas as soqueiras (Figura 5.1). A temperatura média mínima variou de 12 a 25 °C no mês mais frio (junho) e a temperatura máxima variou de 26 a 35 °C no mês mais quente (janeiro) para todas as áreas (Figura 5.1).

#### 5.3.2 Produtividade de colmo e acúmulo de nutrientes

O rendimento de colmos variou de 66 a 210 Mg ha<sup>-1</sup>, com um valor médio de 125,4 Mg ha<sup>-1</sup> (Tabela 5.2). É importante destacar que estes são valores extremos, uma vez que foram considerados os dados individuais de cada parcela, neste sentido uma produtividade de 210 Mg ha<sup>-1</sup> é um valor extremo (“*outlier*”). O valor médio de produtividade de colmos para todas as áreas (125 Mg ha<sup>-1</sup>) foi maior do que produtividade média no Brasil (74 Mg ha<sup>-1</sup>) para a safra 2013/2014 (CONAB, 2015). Além disso, estas observações de alto rendimento de colmos foram maiores do que os valores anteriores documentados por outros pesquisadores no Brasil (GAVA et al., 2005; PRADO; PANCELLI, 2008; OLIVEIRA, 2011; AMARAL; MOLIN, 2013; FORTES al., 2013.; OTTO et al., 2013; ROSSATO et al, 2013), na Austrália

(THORBUN et al., 2011) e nos Estados Unidos (COALE et al., 1993; McCRAY et al., 2014). Neste estudo, a área 3 representou um ótimo ambiente de produtividade de cana-de-açúcar, devido a condição adequada de fertilidade do solo e também pelo alto nível tecnológico adotado na fazenda Campanelli. Por exemplo, com o auxílio da agricultura de precisão na colheita de cana-de-açúcar é reduzida a compactação do solo, a aplicação de nutrientes dá-se em taxas variáveis, tem-se um mapeamento preciso da fertilidade do solo, a aplicação de compostos orgânicos é enriquecido com nutrientes, a aplicação de micronutrientes é feita, dentre outros fatores. Enquanto que nas áreas 1 e 2 além da diferença na fertilidade do solo (Tabela 5.1) nenhum dos procedimentos acima foi adotado, o que pode ter comprometido a produtividade de colmos final dos canaviais.

Tabela 5.2 - Estatística descritiva para rendimento de colmos, biomassa, peso seco de colmo, folha secas e ponteiros, índice de colheita, conteúdo de N, P e K no colmo, folhas secas ponteiros e índices de colheitas de N, P e K em primeiras soqueiras de cana-de-açúcar localizadas em 3 áreas experimentais no estado de São Paulo

Parâmetros	Unidade	Médias	DP	Mínimo	25% Q†	Mediana	75% Q‡	Máximo
Rendimento de colmos	Mg ha <sup>-1</sup>	125	42	66	83	116	164	210
Biomassa total	Mg ha <sup>-1</sup>	57	28	16	28	45	84	106
Colmos	Mg ha <sup>-1</sup>	37	18	9.3	19	31	54	66
Folhas	Mg ha <sup>-1</sup>	8.9	3.4	3.8	6.2	8.0	11	20
Ponteiros	Mg ha <sup>-1</sup>	10	7.4	1.7	3.6	7.8	17	30
IC§	-	0.60	0.04	0.55	0.64	0.66	0.68	0.70
N colmo	kg ha <sup>-1</sup>	89	31	32	64	87	111	168
P colmo	kg ha <sup>-1</sup>	18	12	5.1	7.7	16	26	56
K colmo	kg ha <sup>-1</sup>	268	157	25	202	275	346	713
N folha seca	kg ha <sup>-1</sup>	34	11	18	27	32	38	77
P folha seca	kg ha <sup>-1</sup>	1.9	1.1	0.57	1.2	1.7	2.5	4.9
K folha seca	kg ha <sup>-1</sup>	25	17	1.7	12	18	36	96
N ponteiro	kg ha <sup>-1</sup>	73	45	16	33	53	109	225
P ponteiro	kg ha <sup>-1</sup>	11	6.5	1.3	4.9	8.4	17	26
K ponteiro	kg ha <sup>-1</sup>	176	60	3.9	133	171	209	396
N IC§	-	0.46	0.06	0.31	0.41	0.46	0.50	0.64
P IC§	-	0.57	0.08	0.38	0.51	0.57	0.62	0.81
K IC§	-	0.52	0.19	0.13	0.45	0.53	0.65	0.98

†DP: Desvio Padrão.

‡Q: quátil.

§Índice de colheita.

A produtividade de biomassa variou de 16 a 106 Mg ha<sup>-1</sup>, com um valor médio de 57 Mg ha<sup>-1</sup> (Tabela 5.2). Estes resultados são elevados quando comparados com

estudos de mesma natureza na literatura (INMAN-BAMBER et al., 2002; FRANCO et al., 2011). O acúmulo de N na parte aérea variou entre 85 e 425 kg N ha<sup>-1</sup>, com média de 197 kg N ha<sup>-1</sup>. Esta grande variação no acúmulo de N pela cana-de-açúcar está relacionada com a produtividade de colmos. Embora o acúmulo de N total apresentou ampla variação, esses valores foram semelhantes a outros estudos da literatura. Por exemplo, Wood et al. (1996) documentaram valores de acúmulo de N total variando de 212 para 254 kg ha<sup>-1</sup> em diferentes variedades de cana-de-açúcar. Franco et al. (2011) encontraram valores totais de acúmulo de N que variou de 95 a 154 kg ha<sup>-1</sup> para um a primeira soqueira de cana-de-açúcar. Oliveira et al. (2010), avaliando teor total de N planta em 11 cultivares de cana-de-açúcar irrigadas no nordeste brasileiro informaram que o conteúdo de N variou de 94-260 kg N ha<sup>-1</sup>, com produtividade de colmos de variando 120-232 Mg ha<sup>-1</sup>. A diferença no conteúdo de N pode ser explicada pelo rendimento elevado que foi obtido neste estudo (média de 125 Mg ha<sup>-1</sup>). Outras fontes de N, por exemplo, mineralização do N do solo, reserva de N nas raízes, e fixação biológica de N podem fornecer uma quantidade apreciável de N para a cana-de-açúcar, principalmente a mineralização do N do solo (URQUIAGA et al., 2012; OTTO et al, 2013; MARIANO et al., 2015; VIEIRA-MEGDA et al., 2015).

O conteúdo de P variou de 10 a 80 kg ha<sup>-1</sup>, com uma média de 32 kg ha<sup>-1</sup> de P (Tabela 5.2). Estes valores foram semelhantes aos de outros estudos (de 21 a 39 kg P ha<sup>-1</sup>) relatados por Rakkiyappan et al. (2007), Shukla et al. (2009), e Oliveira et al. (2010). O acúmulo de K seguiu tendência similar ao acúmulo total de N (Tabela 5.2), com valores variando 160-970 kg ha<sup>-1</sup> de K, com uma média de 470 kg ha<sup>-1</sup> K. Coale et al. (1993) e Shukla et al. (2009) relataram menores valores para o acúmulo total de K na colheita variando de 340 e 228 kg ha<sup>-1</sup> de K com um rendimento de colmos de 96 e 80 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Para este estudo, o elevado acúmulo de K pode ser influenciado pelo teor deste nutriente no solo apresentado na área 1, em que o nível de K do solo foi  $\geq 4,3 \text{ mmolc dm}^{-3}$  ao longo do perfil do solo, até 1 m de profundidade (Tabela 5.1). A área experimental 1 tem uma longa história de aplicações anuais de subprodutos da indústria de cana-de-açúcar (torta de filtro e vinhaça). A vinhaça é um resíduo líquido da usina de destilaria de etanol e tem elevado teor de K, assim, aplicações deste subproduto pode ter contribuído para o aumento do teor de K no solo da área 1 (RESENDE et al., 2006). Na literatura estão disponíveis algumas pesquisas que relatam aumento de produtividade com as doses

de K, no entanto o teor deste nutriente no solo era reduzido propiciando um ambiente responsivo (SHUKLA et al., 2009).

### 5.3.3 Biomassa e particionamento de nutrientes

O acúmulo de biomassa da cana-de-açúcar por meio dos ciclos da soca foi caracterizado por um padrão sigmoide (Figura 5.2). A equação não linear de regressão do crescimento inclui dados de todas as áreas experimentais.

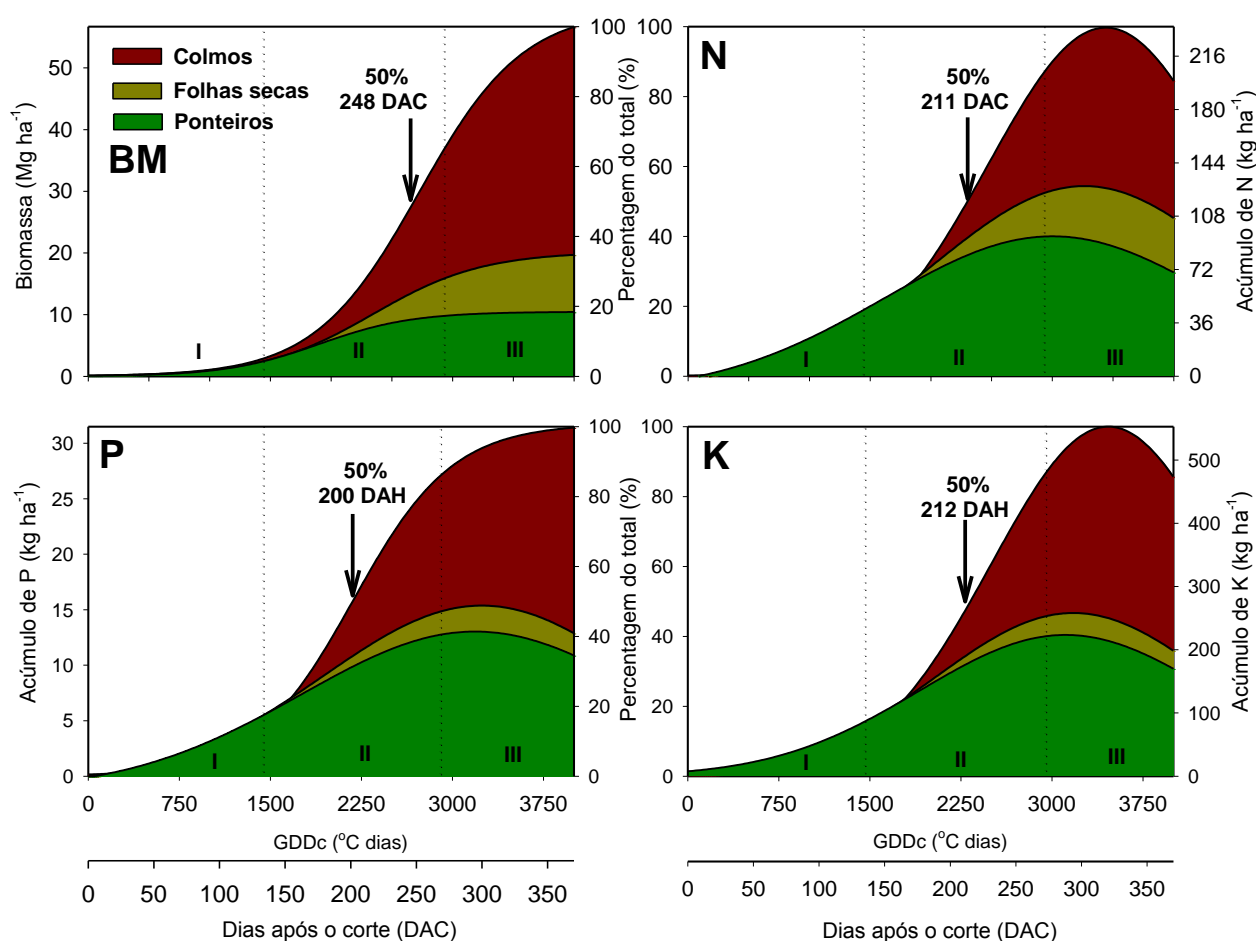


Figura 5.2 - Acúmulo de biomassa (BM), de nutrientes (N, P e K) e particionamento nas frações colmos, folhas secas e ponteiros da cana-de-açúcar durante a primeira soqueira para as três áreas experimentais localizados no estado de São Paulo. As setas indicam dias após a colheita da cana-planta (DAC) quando a biomassa de cana-de-açúcar e os nutrientes atingiram 50% do acúmulo relativo

Foram identificadas três fases distintas de crescimento, como se segue: 1) 0 até 135 DAC (0 a 1450 ° C GDDs), esta fase é marcada por um crescimento lento e

baixo acúmulo de biomassa (em fase lag), acumulando ca. 10% da biomassa total; 2) 135-270 DAC (1450 ° C a 2800 ° C GDDs), este período foi caracterizado por um crescimento rápido que produziu, em média, 65% da biomassa total; e 3) a partir de 270 a 370 DAC (2800 ° C a 4000 ° C GDDs), esta fase exibiu crescimento mais lento e representa a fase de acúmulo de açúcar, em média, 25% da biomassa total (Figura 5.2). Um padrão semelhante ao acúmulo de biomassa de cana-de-açúcar foi previamente descrito por outros autores para cana-planta e os ciclos da soca (COALE et al., 1993; MACHADO et al., 1982; INMAN-BAMBER et al., 2002; GAVA et al., 2005; OLIVEIRA, 2011) para diversas variedades, locais e condições ambientais.

A Fase I compreendeu o crescimento e a fenologia da cana-de-açúcar do início da brotação até 50% da produção de folhas (metade dos ponteiros já formados) (Figura 5.2). O crescimento lento está relacionado com o perfilhamento e a lenta produção durante o estabelecimento da planta (BELL; GARSIDE, 2005; ALLISON et al., 2007). A Fase II é caracterizada por acúmulo linear exponencial de biomassa, que consiste na formação de todo o dossel da planta (ponteiros e folhas secas) e a produção de colmos. Após o estabelecimento do dossel (ponteiros), a cana-de-açúcar é altamente eficiente na conversão de luz interceptada em biomassa (RAE et al., 2005; ALLISON et al., 2007). A última fase, denominada como Fase III, retrata o aparecimento de acúmulo de açúcar, aumentando a sua concentração no colmo (Figura 5.2). Baixas temperaturas do ar, redução da pluviosidade e redução do fotoperíodo são fatores importantes que contribuem significativamente para o amadurecimento da cana (INMAN-BAMBER et al., 2002; ALLISON et al., 2007).

No que diz respeito ao acúmulo de nutrientes, 50% do acúmulo total de nutrientes ocorreu até aos 200 DAC (2190 GDDs) para P e 210 DAC (2280 GDDs) para N e K, enquanto que 50% de acumulação de biomassa ocorreram aos 248 DAC (2700 GDDs). Houve falta de sincronia ou atraso de aproximadamente 40 dias entre os 50% do acúmulo de nutrientes e 50% do acúmulo de biomassa (Figura 5.2). Todos os nutrientes (N, P, e K) foram aplicados no fim da Fase I, em todas as áreas experimentais. Quando ocorre adequada disponibilidade de água, radiação solar e altas temperaturas, o fornecimento de nutrientes torna-se o principal fator limitante que pode afetar o aumento do acúmulo de biomassa (DONALDSON et al., 2008; VAN HEERDEN et al., 2010). Em todas as áreas, os nutrientes foram acumulados de forma linear durante a Fase II que está relacionada com o potencial de produção

para cada ambiente. No entanto, na Fase III, houve diminuição no conteúdo de N e K para todos os componentes (caules e folhas secas) (Figura 5.2). Isso pode ser explicado pelo processo de remobilização que é a redistribuição destes nutrientes para outros órgãos, tais como raízes e rizomas (MALAVOLTA et al., 1997; ANDERSSON et al., 2005; LIM et al., 2007). Este processo pode ser o mais provável para explicar a redução do acúmulo dos nutrientes próximo a maturidade fisiológica. A segunda hipótese está relacionada apenas com N, e é explicado pela emissão foliar de amônia devido à senescência foliar (BRITTO; KRONZUCKE, 2002; EPSTEIN; BLOOM, 2005), justificando a redução do acúmulo de N no fim do ciclo.

No processo de partição de biomassa, a Fase I foi caracterizada por uma maior proporção de biomassa alocada nos ponteiros. No entanto, uma tendência oposta na alocação de biomassa foi observada para as fases II e III. A fração de biomassa no colmo ( $55 \text{ mg ha}^{-1}$ ) correspondeu aproximadamente a 65% do total do acúmulo de biomassa (Figura 5.2 e Tabela 5.2), sendo estes dados semelhantes a outros estudos, variando de 60 a 80% (COALE et al., 1993; INMAN-BAMBER et al., 2002; SHUKLA et al., 2009; TRIVELIN et al., 2013). Inman-Bamber et al. (2002) sugeriram que este índice (proporção de biomassa do colmo em relação ao total) pode ser variável devido às quantidades de palha (folhas secas e ponteiros) recuperadas durante o processo de amostragem no campo.

Neste estudo a palha da cana-de-açúcar foi composta por folhas secas e ponteiros (formado por folhas verdes totalmente expandidas e em formação), ao passo que o ponteiro é o componente que acumula as maiores quantidades de nutrientes em comparação com folhas secas (aproximadamente 60% N, 75% de P e 80% de K) (Figura 5.2 e Tabela 5.2). De acordo com Trivelin et al. (2013), uma vez que as folhas secas apresentam baixo teor de nutrientes e os ponteiros teores elevados, esta fração deve permanecer no campo para favorecer à ciclagem de nutrientes. A permanência desta fração pode diminuir a dependência em longo prazo de fertilizantes, aumentando assim a sustentabilidade da produção de cana-de-açúcar (FRANCO et al., 2013; TRIVELIN et al., 2013).

### **5.3.4 Relação entre rendimento de colmos e acúmulo de nutrientes**

A produtividade de colmos foi positivamente correlacionada com o acúmulo de nutrientes (N, P e K) tanto com o acúmulo total (extração) como com os nutrientes

no colmo (exportação) (Figura 5.3). N e P mostraram uma relação estreita com o rendimento de colmo, mas K apresentou maior variabilidade (com um  $R^2$  não significativo; Figura 5.3-CF). A área 1 mostrou ampla faixa de variação de acúmulo de K variando de 340 a 900 kg ha<sup>-1</sup> para o mesmo nível de produtividade conforme Figura 5.3C, enquanto que na área 2, K e P podem ter limitado o rendimento de colmo, por que o acúmulo de K (70 kg ha<sup>-1</sup>) e de P (9 kg ha<sup>-1</sup>) não variou muito, enquanto que o rendimento de colmo variou 65-120 Mg ha<sup>-1</sup> (Figuras 5.3E e F).

A produtividade de colmos depende da interação complexa entre variedades, ambiente, solo, condições climáticas e práticas de manejo (OLIVEIRA et al., 2010; THORBURN et al., 2011). Vários fatores contribuem para a dispersão, não linearidade e as diferenças de produtividade da cultura em relação ao conteúdo de nutrientes (SETIYONO et al., 2010). Nesta pesquisa, foi observado que as condições climáticas, tais como temperatura do ar e precipitação pluviométrica, foram muito próximas para todas as áreas (Figura 5.1). Nas três áreas experimentais, a principal fonte de variação para a produção de cana-de-açúcar está relacionada com o ambiente e, mais precisamente, com o solo e seus atributos químicos relacionados à fertilidade (Tabela 5.1). Na área 1, o valor de pH médio (4.3) e a saturação por bases (23%) foram considerados baixos, possuindo elevado teor de Al (9,5 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>), quando comparado com a área 3 (Tabela 5.1 e Figuras 5.3 A, B, D e E) (SPIRONELLO et al., 1997). Na área 2, os principais fatores limitantes foram baixos teores médios de P (5,6 mg dm<sup>-3</sup>) e de K (0,3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) no solo quando comparado com demais (SPIRONELLO et al., 1997).



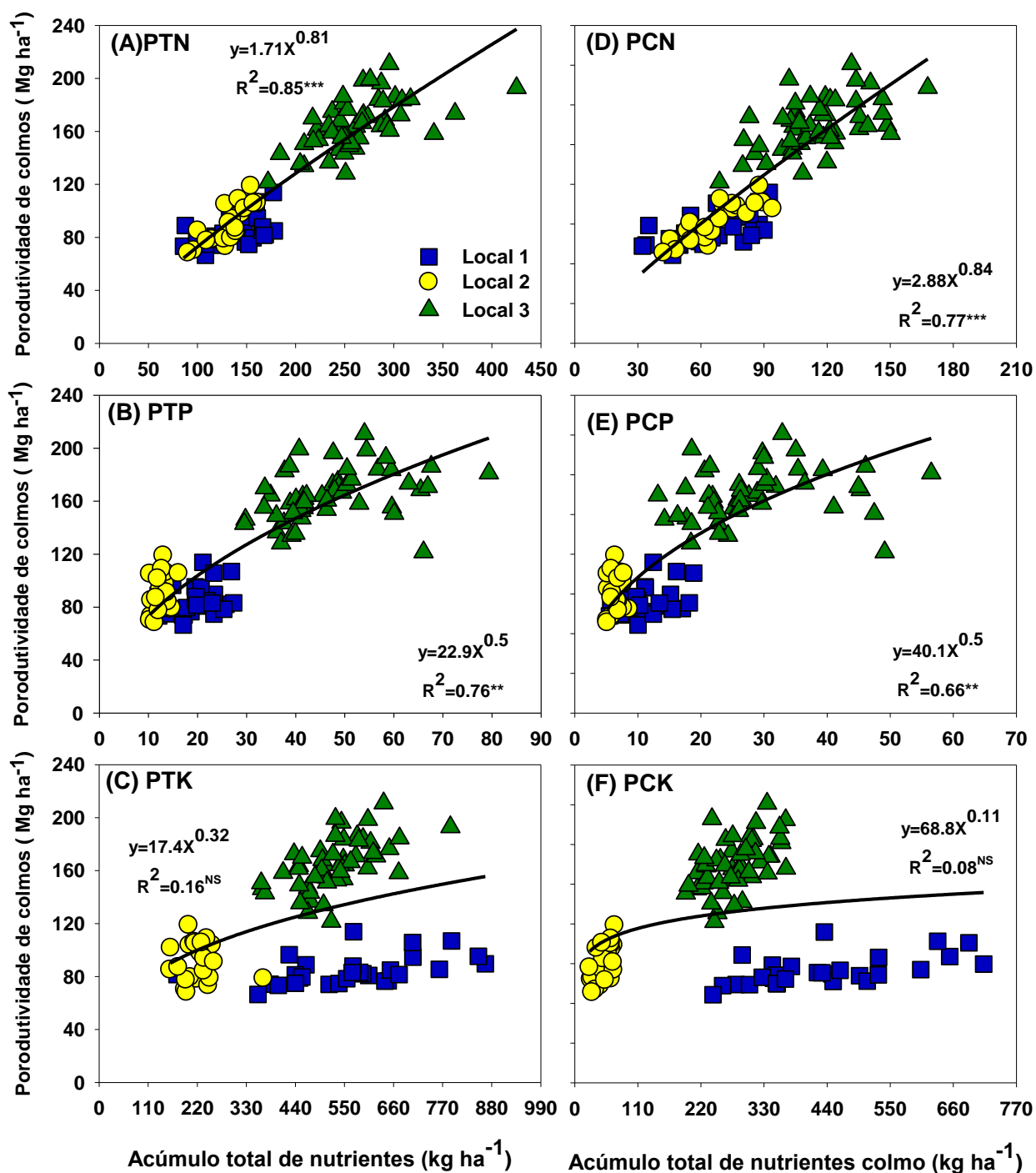


Figura 5.3 - Correlação entre produtividade de colmo *versus* acúmulos de nutrientes na parte aérea e acúmulo de nutrientes no colmo (exportação). Cada ponto representa uma parcela individual de cana-de-açúcar colhida no campo para as três áreas experimentais. Os asteriscos \*, \*\*, e \*\*\* indicam efeito significativo para  $p \leq 0,05$ ; 0,01 e 0,001, respectivamente. PTN: produtividade vs acúmulo total de N; PTP: produtividade vs acúmulo total de P; PTK: produtividade vs acúmulo total de K; PCN: produtividade vs acúmulo de N no colmo; PCP: produtividade vs acúmulo de P no colmo; PCK: produtividade vs acúmulo de K no colmo

As áreas 1 e 2 apresentaram condições de solo iniciais que revelaram restrição na fertilidade do solo o que reduziu o potencial de rendimento da cana-de-açúcar, em comparação com a área 3. Dias et al. (1999) investigando efeito do rendimento de colmo em seis experimentos no Estado de São Paulo, informaram que os teores de nutrientes do horizonte sub-superficiais apresentaram correlação significativa e positiva com o rendimento da cana-de-açúcar. Os autores sugeriram que os solos eutróficos possuem maior potencial para produção de cana-de-açúcar. Estes solos estão principalmente associados com a alta disponibilidade de nutrientes (SADRAS, 2006; SHUKLA et al., 2009).

### **5.3.5 Estequiometria de N:P e N:K nos componentes da cana-de-açúcar**

A avaliação da estequiometria de nutrientes (N:P e N:K) pode fornecer o “status” geral do balanço de nutrientes em uma fase de crescimento específico. Seguindo esse raciocínio, foi estabelecida a relação do acúmulo de N:P e N:K para todos os componentes da parte aérea da cana-de-açúcar (colmo, folhas secas e ponteiros) na colheita (Figura 5.4 e 5.5).

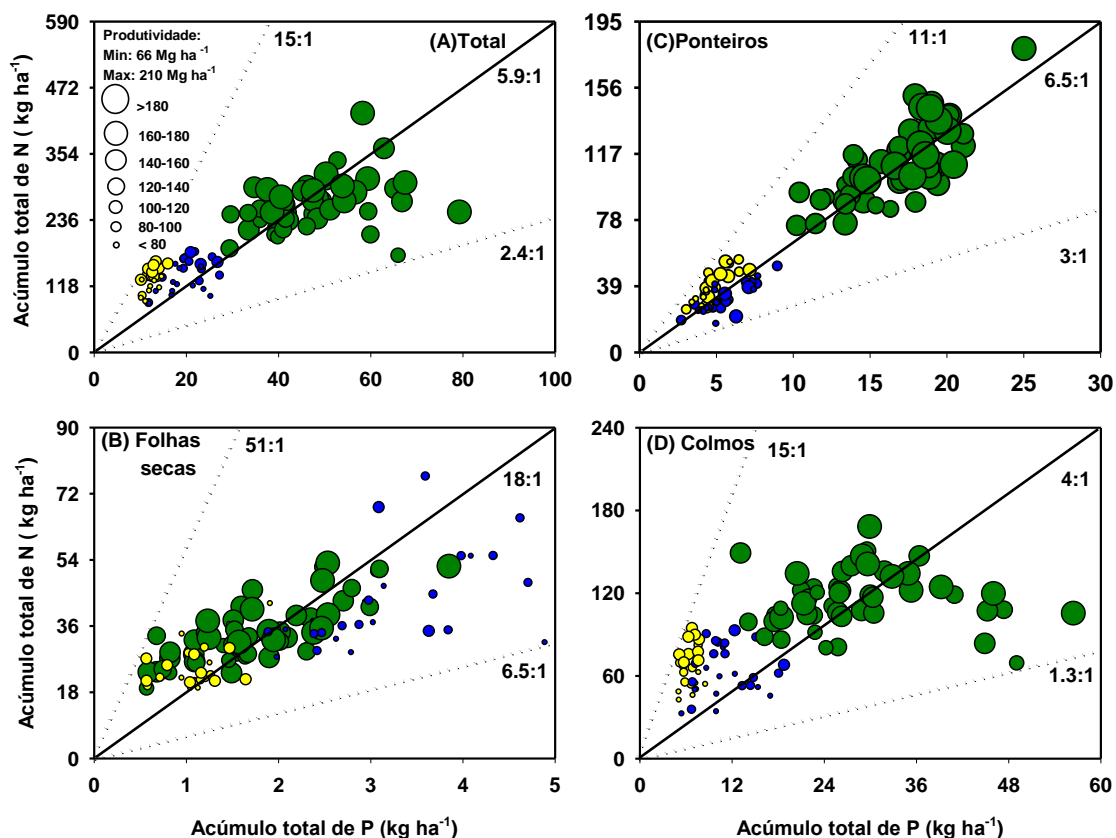


Figura 5.4 - Correlação entre acúmulo total de N e acúmulo total de P para todos os componentes da cana-de-açúcar biomassa total (A), ponteiros (C), folhas secas (B) e colmos (D). Cada ponto representa uma parcela individual de cana-de-açúcar colhida no campo para as três áreas experimentais. As cores dos símbolos se referem à área 1: azul, área 2: amarelo e área 3: verde. Linhas pontilhadas indicam os extremos das relações de N:P para cada componente e linha totalmente preenchida indicam o valor médio da relação de N:P

As Figuras 5.4 informam a correlação do acúmulo total de N: P em relação ao rendimento de colmos (representado pelo tamanho das bolhas). Comparando o acúmulo de N e de P na parte aérea total houve relação média de ca. 6:1 unidades (N:P) (Figura 5.4A), embora a razão N:P mudou com o componente avaliado a partir de 18 unidades para folhas secas (Figura 5.4 B), para 6:1 para ponteiros (Figura 5.4C), e de 4:1 unidades para o colmo (Figura 5.4D). Os ponteiros seguiram relação N:P semelhante e bem estreita o que exemplifica o papel crítico deste órgão na fixação de C e no crescimento, com uma variação de 3:1 a 11:1 (menor que três vezes) (Figura 5.4C). Foram observados que para altas produtividade de cana-de-açúcar, nos ponteiros, a planta apresenta uma relação N:P (ca. 6:1) mais equilibrada. Por exemplo, o rendimento de colmo de 120 Mg ha<sup>-1</sup> resultou em acúmulo de 70 kg de N ha<sup>-1</sup> e 12 kg P ha<sup>-1</sup> (6:1 de N:P) nos ponteiros (Figura 5.4C).

Enquanto que para colmos e folhas secas esta relação teve uma ampla variação. Nesse sentido, em uma análise de revisão, Sadras et al. (2006) observou estreita e equilibrada relação N: P para observações de alto rendimento (com um maior crescimento da planta). No mesmo artigo de revisão, a razão total N:P documentado para cereais foi de 6:1.

Por outro lado, as folhas secas foi o componente que apresentou a maior razão N:P, 18:1 (unidades que variam de 6:1 a 51:1 unidades) (Figura 5.4D). Nesse caso, a influência do rendimento de colmo não foi evidente e individualizada para a relação N:P de folhas secas. Mas o menor acúmulo de nutrientes foi observado neste componente da planta com redução maior em P (cinco vezes) em relação a N (duas vezes), quando comparado com os ponteiros (Figuras. 4BC). Relação mais elevada de N:P em folhas secas indica uma alta remobilização de ácido nucleico, fonte de P das folhas velhas para as folhas jovens (ponteiros), com alta taxa fotossintética (USUDA, 1995; GÜSEWELL, 2004).

A avaliação estequiométrica foi calculada para N e K, mas verificou-se mais variação quando comparada com a relação N: P. A relação geral de N:K foi de 0,5:1 unidades, variando de 0,1: 1 a 1,2: 1 (variação maior que dez vezes) (Figura 5.5). De acordo com a razão N:P, a razão N:K apresentou uma faixa de variação similar nos ponteiros que são componente com alta taxa fotossintética e alta demanda de nutrientes (Figura 5.5).

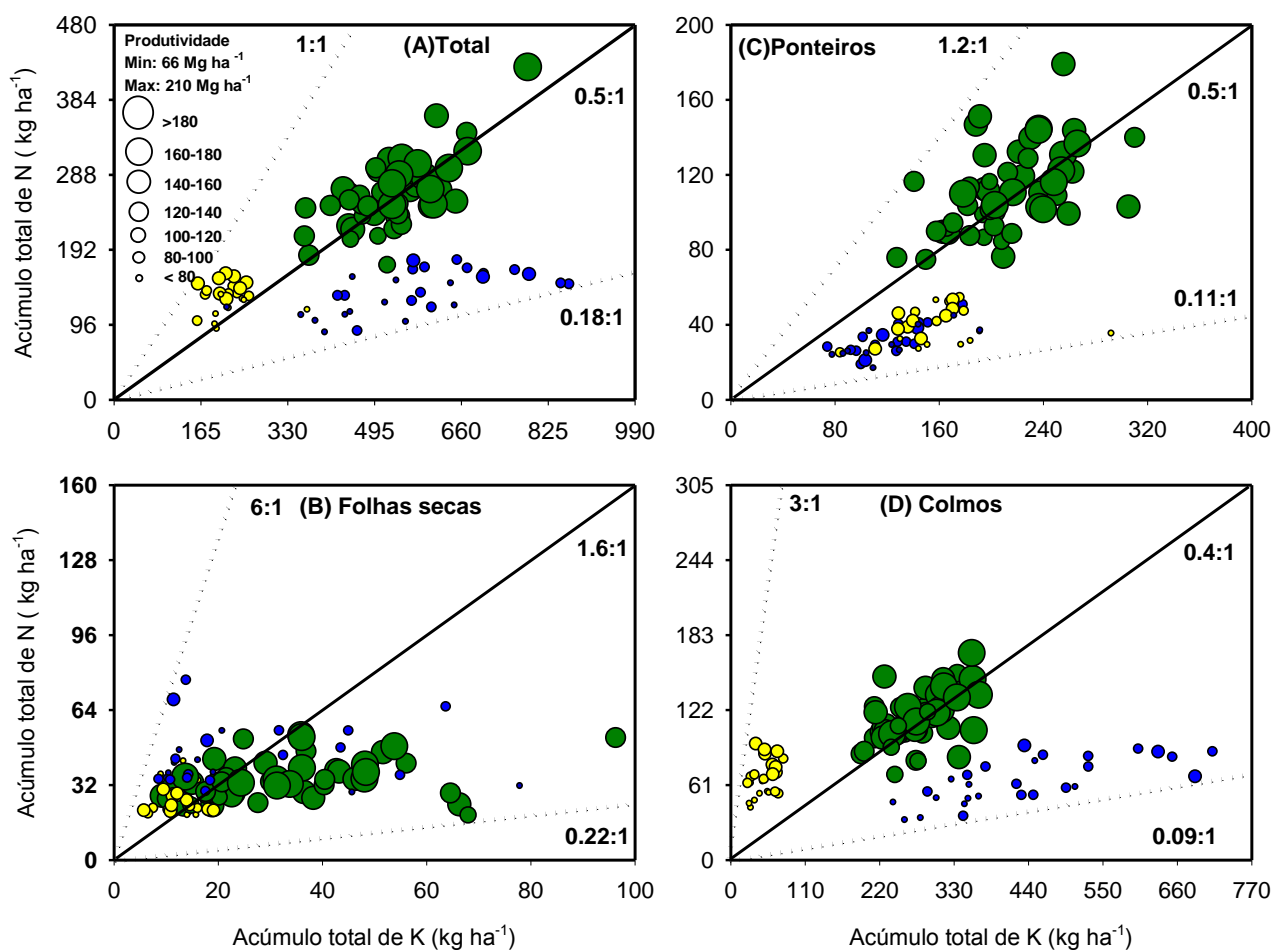


Figura 5.5 - Correlação entre acúmulo total de N e acúmulo total de K para todos os componentes da cana-de-açúcar biomassa total (A), ponteiros (C), folhas secas (B) e colmos (D). Cada ponto representa uma parcela individual de cana-de-açúcar colhida no campo para as três áreas experimentais. As cores dos símbolos se referem à área 1: azul, área 2: amarelo e área 3: verde. Linhas pontilhadas indicam os extremos das relações de N:K para cada componente e linha totalmente preenchida indicam o valor médio da relação de N:K

O K é o nutriente mais importante no processo de regulação osmótica, que é essencial para a extensão de células e o movimento de abertura estomático (SHUKLA et al., 2009; KINGSTON, 2014). Provavelmente, nos ponteiros (folhas funcionais) têm que manter relações mais equilibradas destes nutrientes (N, P e K) para as funções metabólicas como atividade fotossintética, produção de fotossimilados e respiração (GROOT et al., 2003; GÜSEWELL, 2004). Já na condição de excesso da disponibilidade de K no solo, como na área 1 (Tabela 5.1), ocorreu armazenamento em outro componente (colmo), apresentando baixa relação

N: K (0,09:1). No ponteiro é necessário manter uma relação mais estreita e equilibrada para manter tecidos funcionais e para promover a fixação de C, crescimento e aumento do teor de esqueletos carbônicos, bem como produção de açúcar (ALLISON et al., 1997, 2007; ZHAO et al., 2014).

## 5.4 Conclusão

O acúmulo de biomassa na primeira soca de cana-de-açúcar teve três fases de crescimento (inicial, exponencial e estacionária). Na análise de particionamento, as folhas secas apresentam menor teor de nutrientes (N, P e K) e maior razão N:P, em comparação com os ponteiros. Altas produtividades se correlacionam com maior acúmulo de nutrientes e relações mais estreitas e equilibradas. Maior rendimento de colmo e estreita relação N:P (6:1) ocorrem nos ponteiros (folhas verdes) de cana-de-açúcar com elevado acúmulo de N e P.

## Referências

ADAMI, M.; RUDORFF, B.F.T.; FREITAS, R.M.; AGUIAR, D.A.; SUGAWARA, L.M. ; MELLO, M. P. Remote sensing time series to evaluate direct land use change of recent expanded sugarcane crop in Brazil. **Sustainability**, Oxford, v. 4, p. 574-585, 2012.

ALLISON, J.C.S.; WILLIAMS, H.T.; PAMMENTER, N.W. Effect of specific leaf nitrogen content on photosynthesis of sugarcane. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 131, p. 339-350, 1997.

ALLISON, J.C.S.; PAMMENTER, N.W.; AND HASLAM, R.J. Why does sugarcane (*Saccharum* sp. hybrid) grow slowly? **South African Journal Botany**, Durban, v. 73, p. 546-551, 2007.

AMARAL, L.R.; MOLIN, J.P. The effectiveness of three vegetation indices obtained from a canopy sensor in identifying sugarcane response to nitrogen. **Agronomy Journal**, Madison, v. 106, p. 273-280, 2013.

ANDERSSON, A.; JOHANSSON, E.; OSCARSON, P. Nitrogen redistribution from the roots in post-anthesis plants of spring wheat. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 269, p. 321-332, 2005.

BEAUFILS, E.R.; SUMNER, M.E. Application of the DRIS approach for calibrating soil, plant yield and plant quality factors of sugarcane. **Proceedings of the South African Sugar Technologists**, Durban, v. 50, p. 118-124, 1976.

BELL, M.J.; GARSIDE, A.L. Shoot and stalk dynamics and the yield of sugarcane crops in tropical and subtropical Queensland, Australia. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 92, p. 231-248, 2005.

BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J.  $\text{NH}_4^+$  toxicity in higher plants: a critical review. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 159, p. 567-584, 2002.

CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van; QUAGGIO, J.A. Soil and plant analyses for lime and fertilizer recommendations in Brazil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 29, p.1691-1706, 1998.

CASSMAN, K.G.; DOBERMANN, A.; WALTERS, D.T. Agroecosystems, nitrogen-use efficiency, and nitrogen management. **Ambio**, Nebraska, v. 31, p. 132-140, 2002.

CIAMPITTI, I.A.; VYN, T.J. Physiological perspectives of changes over time in maize yield dependency on nitrogen uptake and associated nitrogen efficiencies: a review. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 133, p. 48-67, 2012.

\_\_\_\_\_. Understanding global and historical nutrient use efficiencies for closing maize yield gaps. **Agronomy Journal**, Madison, v. 106, p. 2107-2117, 2014.

CIAMPITTI, I.A.; CAMBERATO, J.J.; SCOTT, T.; VYN, T.J. Maize nutrient accumulation and partitioning in response to plant density and nitrogen rate: I. Macronutrients. **Agronomy Journal**, Madison, v. 105, p. 783-795, 2013.

COALE, F.J.; SANCHEZ, C.A.; IZUNO, F.T.; BOTTCHEER, A.B. Nutrient accumulation and removal by sugarcane grown on everglades histosols. **Agronomy Journal**, Madison, v. 85, p. 310-315, 1993.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar, safra 2014/2015 - terceiro levantamento**. Brasília, 2015 27 p.

DIAS, F.L.F.; MAZZA, J.A.; MATSUOKA, S., PERECIN, D.; MAULE, R.F. Produtividade da cana-de-açúcar em relação a clima e solos da região noroeste do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, p. 627-634, 1999.

DOBERMANN, A. Nutrient use efficiency: measurement and management. In: DOBERMANN, A. **Fertilizer best management practices**. Paris: IFA, 2007. p. 1-28.

DONALDSON, R.A.; REDSHAW, K.A.; VAN, R.; RHODES, R.A. Season effects on productivity of some commercial South African sugarcane cultivars, I: Biomass and radiation use efficiency. **Proceedings of the South African Sugar Technology Association**, Durban, v. 81, p. 517-527, 2008.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro, 2006. 306 p.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. Sunderland: Sinauer Associates, 2005. 376 p.

FORTES, C.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C.; OTTO, R.; FRANCO, H.C.J.; FARONI, C.E. Stalk and sucrose yield in response to nitrogen fertilization of sugarcane under reduced tillage. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, p. 88-96, 2013.

FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, E.C.A.; TRIVELIN, P.C.O. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer in Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 121, p. 29-41, 2011.

FRANCO, H.C.J.; PIMENTA, M.T.B.; CARVALHO, J.L.N.; MAGALHÃES, P.S.G.; ROSSELL, C.E.V.; O.A. BRAUNBECK, O.A.; VITTI, A.C.; KÖLLN, O.T.; ROSSI NETO, R. Assessment of sugarcane trash for agronomic and energy purposes in Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, p. 305-312, 2013.

GAVA, G.J.D.C.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, M.W.D. Urea and sugarcane straw nitrogen balance in a soil-sugarcane crop system. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, p. 689-695, 2005.

GEE, G.W.; BAUDER, J.W. Particle-size analysis. In: KLUTE, A. **Methods of soil analysis: physical and mineralogical methods**. Madison: ASA; SSSA, 1986. p. 383-411.

GOPALASUNDARAM, P.; BHASKARAN, A.; RAKKIYAPPAN, P. Integrated nutrient management in sugarcane. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 14, p. 3-20, 2012.

GREENWOOD, D.J.; KARPINETS, T.V.; ZHANG, K.; BOSH-SERRA, A.; BOLDRINI, A.; KARAWULOVA, L. A unifying concept for the dependence of whole-crop N:P ratio on biomass: Theory and experiment. **Annals of Botany**. Oxford, v. 102, p. 967-977, 2008.

GROOT, C.C., MARCELIS, L. F.M.; BOOGARD, R.V.D.; KAISER, W.M.; LAMBERS, H. Interaction of nitrogen and phosphorus in determining growth. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 248, p. 257-268, 2003.

GÜSEWELL, S. N:P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance. **New Phytologist**, Malden, v. 164, p. 243-266, 2004.

HIMELBLAU, E.; AMASINO, R.M. Nutrients mobilized from leaves of *Arabidopsis thaliana* during leaf senescence. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 158, p. 1317-1323, 2001.

INMAN-BAMBER, N.G.; MUCHOW, R.C.; ROBERTSON, M.J. Dry matter partitioning of sugarcane in Australia and South Africa. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 76, p. 71-84, 2002.

INTERNATIONAL PLANT NUTRITION INSTITUTE. **Fertilizantes: aumento relativo-Brasil x Mundo**. Disponível em: <<http://brasil.ipni.net/article/BRS-3132>>. Acesso em: 29 maio 2015.



KINGSTON, G. Mineral nutrition of sugarcane. In: MOORE, P. H.; BOTHA, F.C. (Ed.). **Sugarcane: physiology, biochemistry, and functional biology**. Oxford: John Wiley, 2014. p. 85-120.

LEAL, M.R.L.V.; GALDOS, M.V.; SCARPARE, F.V.; SEABRA, J.E.A.; WALTER, A.; OLIVEIRA, C.O.F. Sugarcane straw availability, quality, recovery and energy use: A literature review. **Biomass & Bioenergy**, Oxford, v. 53, p. 11-19, 2013.

LIM, P.O.; KIM, H.J.; NAM, H.G. Leaf senescence. **Annual Reviews Plant of Biology**, Palo Alto, v. 58, p. 115-136, 2007.

MACHADO, E.C.; PEREIRA, A.R.; FAHL, J.I.; ARRUDA, H.V.; CIONE, J. Índices biométricos de duas variedades de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, p. 1323-1329, 1982.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

MARIANO, E.; TRIVELIN, P.C.O.; VIEIRA, M.X.; LEITE, J.M.; OTTO, R.; FRANCO, H.C.J. Ammonia losses estimated by an open collector from urea applied to sugarcane straw. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, p. 411-418, 2012.

MARIANO, E.; LEITE J.M.; MEGDA M.X.V.; TORRES-DORANTE, L.; TRIVELIN, P.C.O. Influence of nitrogen form supply on soil mineral nitrogen dynamics, nitrogen uptake, and productivity of sugarcane. **Agronomy Journal**, Madison, v. 107, p. 641-650, 2015.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C.; DANIEL-VEDELE, F.; DECHORGNAT, J.; CHARDON, F.; GAUFICHON, L.; SUZUKI, A. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. **Annals of Botany**, Oxford, v. 105, p. 1141-1157, 2010.

MATTSSON, M.; HUSTED, S.; SCHJOERRING J.K. Influence of nutrition and metabolism on ammonia volatilization in plants. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 51, p. 35-40, 1998.

MCCRAY, J.M.; MORGAN, K.T.; BAUCUM, L.; JI, S. Sugarcane yield response to nitrogen on sand soils. **Agronomy Journal**, Madison, v. 106 p. 1461-1469, 2014.

MEYER, J.H. An evaluation of DRIS based on leaf analysis for sugarcane in South Africa. **Proceeding of the South African Sugar Technology Association**, Durban, v. 55, p. 1-8, 1981.

OLIVEIRA, E.C.A. **Balanço nutricional da cana-de-açúcar relacionado à adubação nitrogenada**. 2011. 215 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011

OLIVEIRA, E.C.A.; OLIVEIRA, R.I.; ANDRADE, B.M.T.; FREIRE, F.J.; LIRA-JUNIOR, M.A.; SIMÕES NETO, D.E. Crescimento e acúmulo de matéria seca em variedades de cana-de-açúcar cultivadas sob irrigação plena. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, p. 951-960, 2010.

OTTO, R., MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A.; P.C.O. TRIVELIN, P.C.O. Quantifying soil nitrogen mineralization to improve fertilizer nitrogen management of sugarcane. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 49, p. 893-904, 2013.

PAUL, M. J.; FOYER, C.H. Sink regulation of photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, p. 1383-1400, 2001.

PRADO, R.M.; PANCELLI, M.A. Sugarcane ratoon response to nitrogen application in a no burn harvesting system. **Bragantia**, Campinas, v. 67, p. 951-959, 2008.

RAE, A.L.; GROF, C.P.L.; CASU, R.E.; BONNETT, G.D. Sucrose accumulation in the sugarcane stem: pathways and control points for transport and compartmentation. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 92, p. 159-168, 2005.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas; Instituto Agrônômico, 2001. 300 p.

RAKKIYAPPAN, P.; THANGAVELU, S.; BHAGYALAKSHMI, K.V.; RADHAMANI, R. Uptake of nitrogen, phosphorus and potassium by soma promising mid late maturing sugarcane clones. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 9, p. 27, 2007.

RESENDE, A.S.; XAVIER, R.P.; OLIVEIRA, O.C.; URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. Long-term effects of pre-harvest burning and nitrogen and vinasse applications on yield of sugar cane and soil carbon and nitrogen stocks on a plantation in Pernambuco, N.E. Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 281, p. 339-351, 2007.

ROSSATO, J.A.S.; COSTA, G.H.G.; MADALENO, L.L.; MUTTON, M.J.R.; HIGLEY, L.G.; FERNANDES, O.A. Characterization and impact of the sugarcane borer on sugarcane yield and quality. **Agronomy Journal**, Madison, v. 105, p. 643-648, 2013.

SADRAS, V.O. The N:P stoichiometry of cereal, grain legume and oilseed crops. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 95, p. 13-29, 2006.

SAGE, R.F.; PEIXOTO, M.M.; SAGE, T.L. Photosynthesis in sugarcane. In: MOORE, P.H.; BOTHA, F.C. (Ed.). **Sugarcane: physiology, biochemistry, and functional biology**. Oxford: John Wiley, 2014. p. 121-155.

SCHULTZ, N.; LIMA, E.; PEREIRA, M.G.; ZONTA, E. Efeito residual da adubação na cana-planta e da adubação nitrogenada e potássica na cana-soca colhidas com e sem a queima da palhada. **Revista Brasileira de Ciência Solo**, Viçosa, v. 34, p. 811-820, 2010.

SETIYONO, T.D.; WALTERS, D.T.; CASSMAN, K.G.; WITT, C.; DOBERMANN, A. Estimating maize nutrient uptake requirements. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 118, p. 158-168, 2010.

SHUKLA, S.K.; YADAV, R.L.; SINGH, P.N.; SINGH, I. Potassium nutrition for improving stubble buds sprouting, dry matter partitioning, nutrient uptake and winter initiated sugarcane (*Saccharum* spp. Hybrid complex) ratoon yield. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 30, p. 27-33, 2009.

SILVA, L.C.F.; CASAGRANDE, J.C. Nutrição mineral da cana-de-açúcar (macronutrientes) In: ORLANDO FILHO, J. (Ed.). **Nutrição e adubação da cana-de-açúcar no Brasil**. Piracicaba: IAA; PLANALSUCAR, 1983. p. 77-99.

SINGH, K.P.; SUMAN, A.; SINGH, P.N.; LAL, M. Yield and soil nutrient balance of a sugarcane plant-ratoon system with conventional and organic nutrient management in sub-tropical India. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 79, p. 209-219, 2007.

SOIL SURVEY STAFF. **Keys to soil taxonomy**. Washington: USDA, Natural Resources Conservation Service, 2014. 356 p.

SPIRONELLO, A.; RAIJ, B. van; PENATTI, C.P.; CANTARELLA, H.; MORELLI, J.L.; ORLANDO FILHO, J.; LANDELL, M.G.A.; ROSSETTO, R. Cana-de-açúcar. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Fundação IAC, 1997. p. 237-239.

THORBURN, P.J.; BIGGS, J.S.; WEBSTER, A.J.; BIGGS, I.M. An improved way to determine nitrogen fertilizer requirements of sugarcane crops to meet global environmental challenges. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 339, p. 51-67, 2011.

TRIVELIN, P.C.O.; FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; FERREIRA, D.A.; VITTI, A.C.; FORTES, C.; FARONI, C.E.; OLIVEIRA, E.C.A.; CANTARELLA, H. Impact of sugarcane trash on fertilizer requirements for São Paulo, Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, p. 345-352, 2013.

ÚNICA- União da Indústria de cana-de-açúcar. **São Paulo fecha safra 2013/2014 com colheita mecanizada em 83% dos canaviais**. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/noticia/6551584920310621254/sao-paulo-fecha-safra-2013-por-cento2F2014-com-colheita-mecanizada-em-83-por-cento-dos-canaviais/>>. Acesso em: 22 jul. 2015.

URQUIAGA, S.; XAVIER, R.P.; MORAIS, R.F.; BATISTA, R.B.; SCHULTS, N.; LEITE, J.M.; SÁ, J.M.; BARBOSA, K.P.; RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. Evidence from field nitrogen balance and <sup>15</sup>N natural abundance data for the contribution of biological N<sub>2</sub> fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 356, p. 5-21, 2012.

USUDA, H. Phosphate deficiency in maize. V. Mobilization of nitrogen and phosphorus within shoots of young plants and its relationship to senescence. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v. 36, p. 1041-1049, 1995.

VIEIRA-MEGDA, M.X.; MARIANO, E.; LEITE, J.M.; FRANCO, H.C.J.; VITTI, A.C.; MEGDA, M.M.; KHAN, S.A.; MULVANEY, R.L.; TRIVELIN, P.C.O. Contribution of fertilizer nitrogen to the total nitrogen extracted by sugarcane under Brazilian field conditions. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 101, p. 241-257, 2015.

VAN HEERDEN, P.D.R.; DONALDSON, R.A.; WATT, D.A.; SINGELS, A. Biomass accumulation in sugarcane: unravelling the factors underpinning reduced growth phenomena. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, p. 2877-2887, 2010.

WOOD, A.W.; MUCHOW, R.C.; ROBERTSON, M.J. Growth of sugarcane under high input conditions in tropical Australia. III. Accumulation, partitioning and use of nitrogen. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 48, p. 223-233, 1996.

ZHAO, D.; GLAZ, B.; COMSTOCK, J.C. Physiological and growth responses of sugarcane genotypes to nitrogen rate on a sand soil. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Hoboken, v. 200, p. 290-301, 2014.



## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho de tese teve como hipótese que a aplicação de SH em misturas com ureia seria uma alternativa viável para aumentar a produtividade de colmos, aumentar a produção de açúcares e a eficiência do uso de N pela cultura da cana-de-açúcar. Em todos os experimentos realizados foi possível observar resultados positivos e de interação entre SH e ureia para a cana-de-açúcar. Os efeitos das SH já são bastante conhecidos na literatura e vem sendo estudados há anos por pesquisadores no Brasil e no exterior. Conforme discutido na revisão bibliográfica deste trabalho de tese, o efeito fisiológico das SH nas plantas é o principal responsável por desencadear uma série de respostas no metabolismo primário e secundário das plantas. Apesar de não ter sido avaliado diretamente este efeito neste estudo, mas foi possível observar a ação das SH na fotossíntese, na síntese de açúcar, na absorção de N e em outros processos metabólicos da cana-de-açúcar.

Os resultados experimentais deste trabalho confirmaram que a aplicação da mistura de SH com ureia para cana-de-açúcar é uma alternativa viável e recomendável para aumentar a EUN e a produtividade da cultura. No entanto, em futuras pesquisas, os estudos devem se concentrar na caracterização das SH para fornecer aos usuários um produto padronizado e de qualidade, com alto grau de humificação. Além disso, as pesquisas devem focar em fontes renováveis de SH, por exemplo, carvão de eucalipto, torta de filtro, ou mesmo vermi-composto. Sabe-se que este é um desafio para a indústria de fertilizantes, mas que pode se tornar realidade porque já existem pesquisas no Brasil que extraem SH dessas matérias primas. Esses estudos devem ser aprimorados e tornar na prática economicamente viável. Ademais, deve-se considerar que toda a cadeia produtiva do setor sucroenergético deve compartilhar do mesmo objetivo, considerando que a cana-de-açúcar produz um combustível limpo e ambientalmente correto.

A aplicação de ureia foliar não é uma novidade; Trivelin et al. (1988) mostraram que 50% do N ureia em solução pode ser absorvido pela cana-de-açúcar até 1 hora após a aplicação foliar deste fertilizante. Isso é uma informação importantíssima que deve ser mais bem aproveitada no setor sucroenergético. Além disso, uma alternativa interessante e que deve ser mais bem estudada e explorada é a mistura de ureia + substâncias húmicas em misturas com vinhaça concentrada. A mistura de ureia com vinhaça concentrada é importante porque aplica dois nutrientes

(N e K) em uma única operação nas soqueiras de cana-de-açúcar. A adição de SH devido ao poder tampão pode contribuir para redução da volatilização do N ureia e os efeitos fisiológicos nas H<sup>+</sup>Atpases podem estimular o melhor aproveitamento desse N pela planta. No entanto são necessários mais estudos com estas misturas (ureia+SH+vinhaça) avaliando-se volatilização e o efeito na produtividade da cultura. Aliado a isto, o monitoramento da fertilidade do solo ainda é uma ferramenta fundamental para o manejo de nutrientes no solo. Conforme demonstrado neste estudo o teor de nutrientes no solo pode limitar a produtividade e muitas das vezes, também, a resposta a doses de N, porque outro nutriente pode ser o limitante da produtividade. Em sistemas de alta produtividade, a calagem, a gessagem, a fertilização de N, P e K e micronutrientes são essenciais para substituir a quantidade de nutriente exportado (removido do campo) pelos colmos.

Uma grande estratégia que tem sido usado pelos agricultores está relacionada com o uso de fertilizantes orgânicos obtidos diretamente do setor sucroenergético, como a vinhaça (alto teor de K), torta de filtro (teor de P significativo) e na renovação do canavial a adubação verde (N). Os fertilizantes orgânicos podem melhorar a sustentabilidade da cultura, diminuindo a dependência de fontes minerais convencionais. O uso desses fertilizantes orgânicos diminui a aplicação de fertilizantes tradicionais e coloca a cultura da cana-de-açúcar em uma base sustentável. O desafio para aperfeiçoar a eficiência do uso de nutrientes em altas produtividades é sincronizar o fornecimento de nutrientes com a necessidade da planta de cana-de-açúcar. Aplicar fertilizantes sem excesso ou deficiência, no tempo certo e no local certo é a chave para aumentar produtividade, lucro, e a proteção ao meio ambiente.

**ANEXOS**



## Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 1 observa-se o espectro de IVobtido da amostra de ácidos húmicos purificados que foram utilizados nos experimentos.

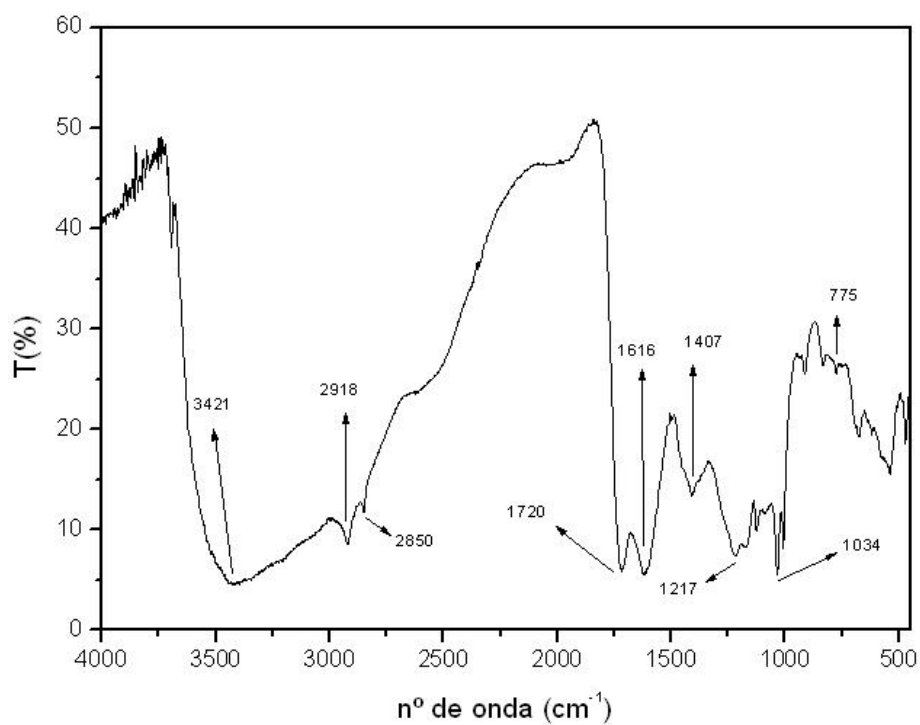


Figura 1 - Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) dos ácidos húmicos

Tabela 1 - Indica as principais bandas dos ácidos húmicos e de suas possíveis atribuições

<b>Bandas</b>	<b>Atribuições</b>
3500-3300	Estiramento de OH carboxílico, fenol, álcool ou água.
2900 e 2850	Estiramento de C-H alifático
~1720	C=O de ácidos carboxílicos, aldeídos e cetonas.
~1630	Estiramento de C=O de COO <sup>-</sup> aromáticos, cetonas ou C=C conjugado com COO <sup>-</sup> ou amidas II, OH
~1583	Estiramento de C=C de aromáticos e amidas NH <sub>2</sub> ou NH
~1450	Deformação de C-H alifático de grupos C-H alifático de grupos CH <sub>2</sub> ou CH <sub>3</sub> , ou compostos de N e/ou S
1408	Deformação de C-H alifáticos, estiramento assimétrico de COO <sup>-</sup>
~1240	Estiramento C-O de grupos fenólicos ou deformação OH de COO <sup>-</sup>
1100-1040	Estiramento C-O de polissacarídeos e compostos de fósforo
890-820	Compostos de Si-O, Si-H e P-O
~770	Estiramento de cadeias alifáticas

Nos comprimentos de ondas de aproximadamente 3421 cm<sup>-1</sup> aparecem bandas largas que comparativamente às principais bandas e atribuições nos ácidos húmicos (Tabela 1) podem estar relacionadas com o estiramento OH carboxílico, fenólico, álcoois e água. As bandas aproximadas de 2918 cm<sup>-1</sup> e 2850 cm<sup>-1</sup> indicam a presença de hidrocarbonetos alifáticos. Em torno de 1720 cm<sup>-1</sup> tem-se a atribuição do estiramento de C=O de grupos carboxílicos e carbonílicos: nas regiões próximas a 1616 cm<sup>-1</sup> características de estiramento C=O de COO<sup>-</sup> aromáticos, de cetonas e aldeídos, C=C de grupos aromáticos e amidas. Em 1407 cm<sup>-1</sup> atribuições de deformação de C-H alifáticos, estiramento assimétrico de COO<sup>-</sup> próximo de 1217 cm<sup>-1</sup> estiramento C-O grupos fenólicos ou deformação OH de CO<sub>2</sub>H. Na região próxima de 1034 cm<sup>-1</sup> ocorre o estiramento C-O de polissacarídeos e compostos de fósforo. Por fim, na proximidade de 775 cm<sup>-1</sup> atribuição do estiramento de cadeias alifática predominância de plantas vasculares.

## Anexo B

**Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

Os espectros de RMN de  $C^{13}$  CP/MAS -TOSS obtidos das amostras de SH e AH foram divididos em 5 regiões químicas diferentes, sendo elas:

- 0-45 ppm- carbonos de grupos alifáticos simples ( $CH_2$ ,  $CH_3$ );
- 45-90 ppm- carbonos de grupos alifáticos com oxigênio ligado ( $CHOH$ ,  $CH_2OH$ ,  $CH_2-O-$ );
- 90-162 ppm- carbonos de grupos aromáticos ( $CH$ ,  $C$ );
- 162- 190 ppm- carbonos de grupos carboxílicos e ésteres ( $COOH$ ,  $COO-R$ );
- 190-250 ppm- carbonos de cetonas, quinonas e aldeídos ( $C=O$ ,  $CH=O$ ). (CHRISTL et al., 2000, CHEN et al., 2002, FRANCIOSO et al., 1996a, 1996b; MAO, et al. 2000).

Para cada espectro de RMN das amostras e de ácidos húmicos foi feita a integração de cada região para o cálculo da porcentagem relativa desses grupamentos em cada fração.

Na Tabela 02 apresentam-se os valores obtidos e na Figura 01, os espectros correspondentes a cada uma das amostras.

Tabela 2 - Resultados das porcentagens da pela integração dos espectros de RMN  $C^{13}$  CP/MAS-TOSS em cada região química

Frações	% relativa para cada região química (ppm)				
	0-45	45-90	90-162	162- 190	190-250
<b>Substâncias Húmicas</b>	23	23,5	50	18	8,36
<b>Ácidos húmicos</b>	12,45	53,12	49,1	37,14	8,32

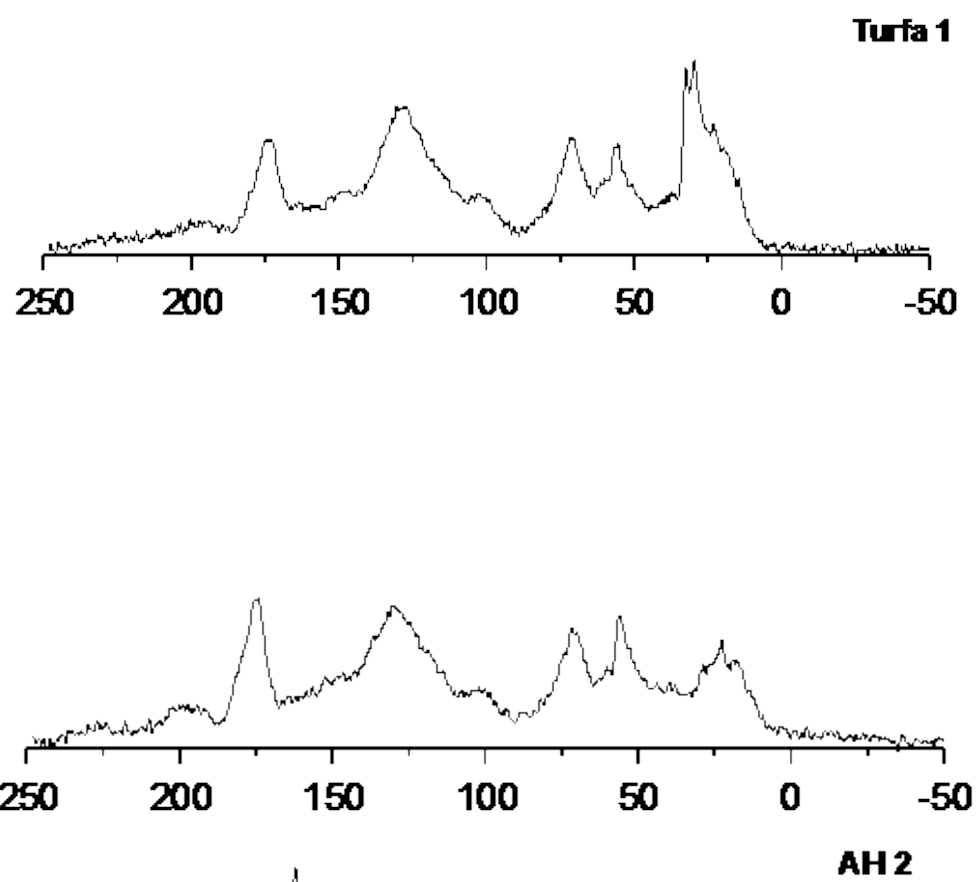


Figura 1 - Espectros de RMN de  $\text{C}^{13}$  CP/MAS-TOSS das amostras de turfa e de seus ácidos húmicos