

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

**Substâncias húmicas extraídas de turfa associadas com N-ureia:  
influência no crescimento da cana-de-açúcar e nas  
transformações do N no solo**

**Paulo Ricardo Casagrande Lazzarini**

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

**Piracicaba  
2014**

Paulo Ricardo Casagrande Lazzarini  
Engenheiro Agrônomo

**Substâncias húmicas extraídas de turfa associadas com N-ureia: influência no crescimento da cana-de-açúcar e nas transformações do N no solo**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

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

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

**Piracicaba  
2014**

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

Lazzarini, Paulo Ricardo Casagrande

Substâncias húmicas extraídas de turfa associadas com N-ureia: influência no crescimento da cana-de-açúcar e nas transformações do N no solo / Paulo Ricardo Casagrande Lazzarini. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2014.

82 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2014.  
Bibliografia.

1. *Saccharum* spp 2. Hidrólise da uréia 3. Crescimento radicular 4. Cana-planta 5. Parte aérea 6. Nutrição da planta 7. Dinâmica de raízes I. Título

CDD 633.61  
L432s

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

Aos meus pais,

**Vera Lúcia Casagrande Lazzarini e Ricardo Lazzarini**, pelo caráter, ensinamento, dedicação, amor e exemplo de vida.

A meu irmão,

**João Victor Casagrande Lazzarini** pelo companheirismo, amizade, força de vontade e confiança.

**OFEREÇO**

**À Maria Eduarda RighettoSetti**

Pelo amor, incentivo e companheirismo.

**DEDICO**



## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Paulo Cesar Ocheuze Trivelin pelos ensinamentos, orientação digna do sentido da palavra, e amizade.

À ESALQ, pelo ensino de qualidade e oportunidades.

Ao Departamento de Ciência do Solo e Programa de Pós Graduação em Solos e Nutrição Mineral de Plantas, pela sólida formação e infra-estrutura disponibilizada.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de mestrado

Ao GAPE (Grupo de Apoio à Pesquisa e Extensão) em nome dos Professores Godofredo Cesar Vitti, Pedro Henrique de Cerqueira Luz e Rafael Otto pelas amizades, formação e incentivos.

Aos colegas de Pós-Graduação, pela amizade, apoio, paciência e convívio: Beatriz Nastaro, Carlos Sant'Ana, Eduardo Mariano, Evandro Schoninger, Hugo Abelardo González Villalba, João Milagres, José Marcos Leite, Lucas Miachon, Maria Stefania D'Andrea e Oriel Kölln.

Aos amigos José Marcos Leite e Hugo Henrique Batagello. A participação de vocês para a realização desse trabalho é imensurável e impagável. Agradeço a vocês por às vezes terem acreditado nas minhas ideias loucas e por terem feito que algumas se concretizassem em resultados importantes para esse trabalho.

Ao grande amigo João Luís Bigatão Souza (Furūku) pela amizade, entusiasmo, e seu constante e espontâneo auxílio para o desenvolvimento desse trabalho.

Aos estagiários: Jussara Pereira, Carolina Zacarias, Mariana Torres, Aline Toledo, Giovana Novembre, Lucas Basso, Luiz Henrique Massuchetto, Luís

Alexandre, Ricardo Luiz Cezario, Jéssica Scarpim, Bruna Arruda pelas amizades e apoio prestado 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, Glauco e Juliana, pela excelência do serviço realizado. Em especial ao José Aurélio Bonassi (Pingin) e Hugo Batagello, pela atenção com que tratam as pessoas e pela valorização do ser humano.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura- CENA/USP, em especial ao Laboratório de Isótopos estáveis-LIE, pelo apoio e estrutura.

Ao Prof. Laércio Favarin e seu grupo de pós-graduandos pela amizade, confiança e pelo empréstimo do software winrhizo que foi essencial para as análises do sistema radicular da cana-de-açúcar.

À AGROLATINO® BIOTECNOLOGIA S/A, pelo apoio financeiro no desenvolvimento desse projeto.

Aos meus grandes amigos da República Copacabana pelo aprendizado e vivência da força e tradição da amizade esalqueana. Sou eternamente grato a tudo o que essa família proporcionou na formação do meu caráter, crenças e relações pessoais.

Aos amigos da República Paiol os quais me acompanharam nesses dois anos de mestrado: Txarli, Sauipe, Subako, Gaucho, Boia Bosta e Felipe Favarin, pela amizade, incentivo e convivência.

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

**MUITO OBRIGADO!!!**

***“A única coisa de que você deve ter medo é do próprio medo em si”***

*Franklin Delano Roosevelt*

*32º Presidente dos EUA*





## SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT .....	13
1 INTRODUÇÃO .....	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 Adubação nitrogenada e sistema radicular da cana planta.....	17
2.3 Efeito bioestimulante das substâncias húmicas .....	20
2.4 Substâncias húmicas e dinâmica do nitrogênio na interface solo-planta .....	22
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	25
3.1 Experimento em Casa de Vegetação .....	25
3.1.1 Instalação, delineamento experimental e condução.....	25
3.1.2 Preparo e caracterização das Substâncias Húmicas .....	30
3.1.3 Preparo das soluções de Substâncias Húmicas e ureia.....	32
3.1.4 Avaliações morfológicas do sistema radicular e parte aérea das plantas .....	33
3.1.5 Análise do tecido vegetal.....	36
3.1.6 Procedimentos estatísticos.....	37
3.2 Experimento de Incubação de solo .....	37
3.2.1 Instalação, delineamento experimental e condução.....	37
3.2.2 Extração e análise do N-mineral .....	38
3.2.3 Procedimentos estatísticos.....	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
4.1 Transformações no solo do N-ureia relacionadas com as substâncias húmicas ...	41
4.2 Experimento em casa-de-vegetação: Sistema radicular de cana-de-açúcar .....	51
4.3 Experimento em casa-de-vegetação: Parte aérea de cana-de-açúcar .....	60
4.4 Teor e Acúmulo de Nitrogênio.....	66
5 CONCLUSÕES .....	71
REFERÊNCIAS.....	73



## RESUMO

### **Substâncias húmicas extraídas de turfa associadas com N-ureia: influência no crescimento da cana-de-açúcar e nas transformações do N no solo.**

As substâncias húmicas (SH) podem alterar o crescimento das plantas bem como estimular a absorção de nutrientes. A ureia é o fertilizante nitrogenado mais utilizado na agricultura, porém, apresenta baixa eficiência de uso. Sabe-se que as substâncias húmicas podem aumentar a eficiência de uso da ureia por meio de efeito bioestimulante no crescimento radicular. Somado a isso, as SH atuam nas bombas de próton das raízes estimulando a absorção de nitrogênio e também alteram a dinâmica de hidrólise e mineralização do N-ureia. O objetivo deste trabalho foi verificar se as SH extraídas de turfa, associadas ou não ao N-ureia, alteram as transformações do N-ureia no solo, assim como o crescimento radicular e da parte aérea no desenvolvimento inicial da cana-planta. Nesse sentido, foram instalados dois experimentos em casa de vegetação, um com a presença de plantas para aferir parâmetros morfológicos e nutricionais e outro, sem plantas, para verificar a dinâmica de hidrólise e mineralização do N-ureia. Os experimentos foram planejados em delineamento experimental inteiramente casualizado com 16 tratamentos e cinco repetições, correspondendo a um esquema fatorial completo com quatro doses de nitrogênio na forma de ureia: 0; 100; 200 e 300 mg dm<sup>-3</sup> e quatro doses de SH: 0; 13,8; 27,6; 41,7 mg dm<sup>-3</sup> de C, e o experimento sem plantas utilizando o mesmo delineamento porém com 3 repetições e análises feitas em duplicatas. As substâncias húmicas aumentaram a hidrólise da ureia elevando a concentração de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo. O processo de nitrificação da ureia foi reduzido na presença das substâncias húmicas. As aplicações isoladas de N e SHs estimularam o crescimento radicular e da parte aérea da cana-de-açúcar, bem como modificaram as características morfológicas das raízes e parte aérea da cana-planta. A associação dos produtos resultou em decréscimos no crescimento vegetal devido às altas concentrações de amônio causadas pela maior hidrólise da ureia e também atuaram na redução do acúmulo e teor de nitrogênio na planta. Tanto a ureia quanto as SHs se mostraram eficientes no estímulo do crescimento inicial da cana-de-açúcar, no entanto, devido às altas doses de N-ureia utilizadas, o possível efeito sinérgico dos produtos não foi verificado.

Palavras-chave: *Saccharum* spp; Hidrólise da ureia; Crescimento radicular; Cana-planta; Parte aérea; Nutrição da planta; Dinâmica de raízes



## ABSTRACT

### **Humic substances extracted from peat associated with N-urea: influence on sugar cane growth and N transformations in soil**

Humic substances (HS) can alter plant growth and stimulate the absorption of nutrients. Urea is the most widely used nitrogen fertilizer in agriculture, however, has low use efficiency. It is known that humic substances can increase the efficiency of urea through bio-stimulant effect on root growth. Added to this, the SH proton pumps operate in the roots stimulating the uptake of nitrogen and also alter the dynamics of urea's hydrolysis and mineralization. The aim of this study was to verify whether the HS extracted from peat, associated or not with N-urea, alter the dynamics of transformation of urea-N in the soil and the growth of roots and shoots in the cane-plant cropcycle. In this direction, two experiments were carried out in a greenhouse, with the presence of plants to assess morphological and nutritional parameters and one without plants, to verify the dynamics of hydrolysis and mineralization of N-urea. The experiments were designed in a completely randomized design with 16 treatments and five replications, corresponding to a full factorial design with four rates of nitrogen as urea: 0, 100, 200 and 300 mg dm<sup>-3</sup> and four rates of HS: 0, 13.8, 27.6, 41.7 mg dm<sup>-3</sup> C, and experiment without plants using the same design but with three replications and analyzes performed in duplicates. The humic substances increased hydrolysis of urea by raising the concentration of NH<sub>4</sub><sup>+</sup> in soil. The nitrification of urea was reduced in the presence of humic substances. Individual applications of N and SHs stimulated root and shoot of sugar cane growth and modified the morphological characteristics of roots and shoots in the crop cycle of the cane-plant. The association of the product resulted in decreases in plant growth due to high ammonium concentrations caused by increased hydrolysis of urea and also reduced accumulation and nitrogen content in the plant. Both urea and the SHs were effective in stimulating early growth of sugar cane, however, due to high doses of N-urea used, the synergistic effect of the products has not been verified.

**Keywords:** *Saccharum spp*; Hydrolysis of urea; Root growth; Cane-plant; Shoots; Plant nutrition; Root dynamics



## 1 INTRODUÇÃO

Com o aumento progressivo da adoção das substâncias húmicas como promotoras de crescimento pelos produtores rurais (CANELLAS et al., 2012), muitas fábricas de fertilizantes estão redirecionando suas produções para fabricação de bioestimulantes utilizando como base os ácidos húmicos e alguns outros compostos orgânicos (TREVISAN et al., 2010).

Muitos resultados relacionados ao uso das SH são atribuídos aos efeitos característicos de hormônios vegetais, principalmente as auxinas, no inglês conhecido como “*Auxin-Like Effects*” (MUSCOLO et al., 1999). Esses efeitos são caracterizados pelo estímulo do enraizamento e, geralmente, impactam positivamente na produção da parte aérea (MARQUES JR. et al., 2008; NARDI et al., 2009; MORA et al., 2010).

Simultaneamente ao efeito hormonal, quando os vegetais são submetidos às SH, verificam-se maiores atividades das bombas de prótons das raízes, importante via de absorção de nutrientes das plantas, contribuindo para o aumento da absorção de nutrientes (QUAGGIOTTI et al., 2004; ZANDONADI; CANELLAS; FAÇANHA, 2007). Sendo assim, o uso desse produto pode aumentar a eficiência dos fertilizantes utilizados nas culturas agrícolas (ZANDONADI et al., 2013).

Além do efeito na planta, as substâncias húmicas geram efeitos positivos na estrutura e fertilidade do solo, aumento da disponibilidade de nutrientes, redução da toxidez por alumínio e também na remediação de solos contaminados com metais pesados (ROCHA; ROSA, 2003; CANELLAS et al., 2005).

Os fertilizantes nitrogenados caracterizam-se como os fertilizantes de maior custo energético em sua obtenção, uma vez que é necessária grande quantidade de energia na transformação do N<sub>2</sub> atmosférico em fontes nitrogenadas para as plantas (FRANCO; SARAIVA NETO 2008). Além do custo energético existe também o custo ambiental da inadequada utilização da adubação nitrogenada. A baixa eficiência da fertilização nitrogenada pode contaminar lençóis freáticos e a atmosfera (ZHANG; TIAN; ZHANG, 1996; ASMAN; SUTTON; SCHJORRING, 1998). Nesse sentido a viabilização de tecnologias que aumentam a eficiência da adubação com fertilizantes nitrogenados são de grande importância para o estabelecimento de uma agricultura sustentável com melhor uso dos recursos naturais.



Verificar a hipótese de que as SH incrementam a eficiência de absorção do nitrogênio é importante uma vez que pesquisas indicam que substâncias húmicas promovem maior crescimento radicular e aumentam a capacidade de absorção de nutrientes, assim como aumentam a atividade das bombas de prótons.

Outro assunto ainda não compreendido amplamente é a associação da ureia, fertilizante nitrogenado mais utilizado, com as SH no que diz respeito à dinâmica da hidrólise do fertilizante, bem como, transformação do N-ureia em outras formas minerais de N, tais como,  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ . Esse estudo sugere algumas questões: Como as SH alteram a hidrólise da ureia (para posterior transformação em  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ ), ocorre estímulo ou supressão? Qual o efeito das SH na transformação do N-ureia em  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ ; existe predomínio de alguma forma do N mineral?

Este trabalho objetivou avaliar se as SH extraídas de turfa associadas ou não com N-ureia modificam o crescimento do sistema radicular e da parte aérea da cana-de-açúcar, assim como, a dinâmica do N no solo.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Adubação nitrogenada e sistema radicular da cana planta

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar representando 25% da produção mundial de açúcar e 20% do etanol (FAO, 2012). Nas exportações, o Brasil responde por 50 %do açúcar e 20% da de etanol. Existem mais de 430 unidades de produção de açúcar e álcool com cerca de 1,2 milhão de trabalhadores dedicados a este agronegócio (JANK, 2012). Segundo previsões da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2013), a área destinada ao cultivo da cana-de-açúcar na safra 2013/2014 será de 9 milhões de hectares, com produção estimada em 660 milhões de toneladas de colmos.

Historicamente as produtividades obtidas na cultura da cana-de-açúcar têm aumentado. Segundo Nykoet al. (2013), de 1975 até 2010 a produtividade média dos canaviais variou de 45 t ha<sup>-1</sup> para valores próximos a 80 t ha<sup>-1</sup>. O autor atribuiu tal incremento aos avanços tecnológicos obtidos após o Proálcool. Um dos fatores fundamentais para estes avanços foi a questão nutricional das plantas, por meio do aumento da utilização de corretivos agrícolas e de fertilizantes.

O nitrogênio é um componente essencial das proteínas, ácidos nucleicos, clorofila e muitos outros metabólitos secundários, por isso, é requerido como um macronutriente no crescimento vegetal (LUO et al., 2013). A ausência de nitrogênio limita o crescimento vegetal e sua baixa disponibilidade causa redução da divisão e expansão celular, da área foliar e fotossíntese (CHAPLIN, 1980).

A resposta da cana planta à adubação nitrogenada é baixa. Azeredo et al. (1986) verificaram resposta para adubação nitrogenada de plantio em apenas 19% dos 135 experimentos analisados. Na mesma linha de estudo, Cantarella e Raij (1985) observaram, em 81 ensaios realizados no Estado de São Paulo, resposta em menos de 40% quanto à adubação nitrogenada de plantio. As baixas respostas observadas têm como principal justificativa a mineralização do nitrogênio orgânico do solo intensificado após o manejo do solo pré-plantio, uma vez que as operações oxigenam o solo auxiliando na mineralização do N orgânico (CANTARELLA; TRIVELIN; VITTI, 2007).

Por outro lado, em experimentos desenvolvidos em vasos com solos arenosos, Trivelinet al. (2002) e Bologna-Campbell et al. (2013), observaram aumento linear na

massa da parte aérea, sistema radicular e no acúmulo de nitrogênio relacionados com a adubação nitrogenada de plantio. Em experimentos de campo, Sampaio et al. (1987) e Otto et al. (2009) verificaram que a adubação nitrogenada de plantio favoreceu o crescimento e incremento da biomassa do sistema radicular. Segundo Otto (2007), existe evidências que a resposta da cana-planta à adubação nitrogenada esteja relacionada com o desenvolvimento do sistema radicular, com incrementos na produtividade da cana-planta e também como fonte de reserva nutricional para as soqueiras subsequentes.

São poucos os trabalhos com cana-de-açúcar em que é investigado o sistema radicular quanto à biomassa vegetal produzida. São ainda mais escassos trabalhos que além da avaliação da biomassa, procuram caracterizar morfológicamente o sistema radicular, quanto à área superficial, comprimento e diâmetro médio das raízes. Tais lacunas no conhecimento a respeito do sistema radicular são um impedimento para o desenvolvimento de estratégias visando a melhoria e incrementos no sistema radicular (SMITH; INMAN-BAMBER; THORBURN, 2005). É importante que estudos do desenvolvimento da cana-de-açúcar busquem esclarecer também o que ocorre com a parte subterrânea da planta.

Segundo o artigo de revisão sobre o crescimento e função do sistema radicular da cana-de-açúcar de Smith, InmanBamber e Thorburn (2005), o desenvolvimento do sistema radicular é iniciado logo após o plantio. Inicialmente surgem as raízes do colmo (Figura 1) que emergem do anel radicular que fica abaixo da gema que originará os primeiros perfilhos. As raízes do colmo são finas e altamente ramificadas e tem como função suprir a necessidade da cana-de-açúcar durante as primeiras semanas de desenvolvimento. Logo após a emergência das raízes do colmo, surgem as raízes do perfilho as quais tem origem na base dos perfilhos em desenvolvimento (Figura 1). As raízes do perfilho são mais grossas e mais tenras que as raízes do colmo, porém são menos ramificadas. As raízes do perfilho constituem o principal sistema radicular da cana-de-açúcar (van DILLEWIJN, 1952<sup>1</sup> apud SMITH; INMAN-BAMBER; THORBURN, 2005) e após a senescência das

---

<sup>1</sup>van DILLEWIJN, C. **Botany of sugarcane**. Waltham: ChronicaBotanics, 1952. 371 p.

raízes do colmo, que ocorre entre 60-90 dias (GLOVER, 1967<sup>2</sup> apud SMITH; INMAN-BAMBER; THORBURN, 2005), atendem a demanda por água e nutrientes da planta.

Nesse sentido é interessante estimar as modificações morfológicas do sistema radicular e parte aérea cana-planta em desenvolvimento inicial, relacionado com a fertilização nitrogenada de plantio e adição de substâncias húmicas. Também há necessidade de avaliar o acúmulo de nitrogênio nos diferentes compartimentos da planta bem como a eficiência da utilização do fertilizante.

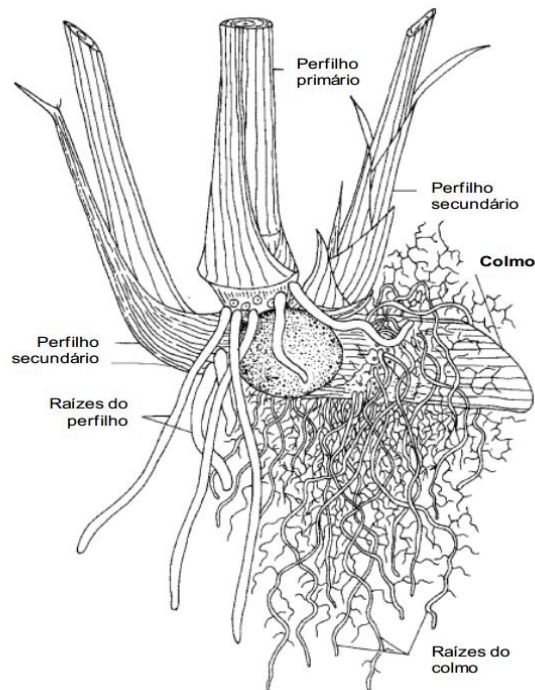


Figura 1 - Representação do desenvolvimento inicial do sistema radicular da cana-de-açúcar, apresentando as duas principais classes de raízes do início do desenvolvimento: as raízes finas que emergem do colmo (raízes do colmo) e as raízes mais grossas que tem origem na base dos perfilho (raízes do perfilho) (SMITH; INMAN BAMBER; THORBURN, 2005)

---

<sup>2</sup>GLOVER, J. The simultaneous growth of sugarcane roots and tops in relation to soil and climate. In: CONGRESS OF THE SOUTH AFRICAN SUGAR TECHNOLOGY ASSOCIATION, 41., 1967, Durban. **Proceedings...** p. 143-158.

### 2.3 Efeitobioestimulante das substâncias húmicas

Diversos estudos confirmaram a hipótese do efeito direto das substâncias húmicas no crescimento vegetal de diversas culturas, tais como: abóbora (Mora 2010), alface (ARANCON et al., 2012), cenoura (MUSCOLO et al., 1999), tomate (ADANI et al., 1998; ARANCON et al., 2012), milho (NARDI et al., 2000; CANELLAS et al., 2002, 2013) e cana-de-açúcar (GOVINDASMY; CHANDRASEKARAN, 1992; MARQUES JR. et al., 2008).

Um dos efeitos diretos mais característicos das SHs ocorre, em particular, no sistema radicular das plantas, com o desenvolvimento de raízes laterais (CANELLAS et al., 2002; ZANDONADI; CANELLAS; FAÇANHA, 2007; CANELLAS et al., 2008, 2012; JINDO et al., 2011; AGUIAR et al., 2013). Segundo Canellaset al. (2012), as raízes laterais de monocotiledôneas são emitidas a partir das raízes principais e aumentam de forma expressiva a área superficial total das raízes, propriedade responsável por aumentar o contato com o solo, e conseqüentemente, a absorção de água e nutrientes.

Outro possível mecanismo pelo qual as substâncias húmicas estimulam o crescimento vegetal é parcialmente conhecido e estudado (TREVISAN et al., 2010). Canellaset al. (2002) verificaram que as SHs ativam as bombas de prótons  $H^+Atpases$  presentes na membrana plasmática das células radiculares, ocorrendo assim, incremento da extrusão de  $H^+$  no apoplasto. A extrusão de  $H^+$  promove a redução do pH e, como resultado, ocorre a ativação das expansinas, enzimas que atuam no rompimento das pontes de hidrogênio da parede celular levando a um afrouxamento da mesma (CANELLAS et al., 2005). Tal afrouxamento associado com a pressão de turgescência interna leva ao alongamento das células, processo esse, irreversível, denominado de crescimento ácido, típico das auxinas (RAYLE; CLELAND, 1992).

Substâncias parecidas com hormônios vegetais (*Hormone-like substances*, em inglês), bem como, hormônios vegetais (a exemplo do ácido indol-acético: AIA) já foram identificadas fazendo parte das SHs (MUSCOLO; CUTRUPI; NARDI, 1998; PIZZEGHELLO; NOCOLINI; NARDI, 2001; CANELLAS et al., 2002; QUAGGIOTTI, 2004; GAO et al., 2011). Isso é importante uma vez que a promoção do crescimento vegetal pelos ácidos húmicos tem sido atribuída a ações similares a

hormônios, devido à promoção do desenvolvimento e proliferação das raízes, resultando em absorção mais eficiente de água e nutrientes (RIMA et al., 2011).

Os vegetais, de forma geral, por meio da exudação de ácidos orgânicos, são capazes de mobilizar a conformação supramolecular dos ácidos húmicos (NARDI et al., 2000; RIMA et al., 2011), liberando moléculas de menor tamanho, tais como AIA e outros compostos estimulantes. Rima et al. (2011) observaram que a adição de ácido cítrico, importante ácido orgânico presente nos exudatos radiculares, promoveu o rompimento da associação supramolecular das SHs, tornando as moléculas bioativas, presentes nos agregados húmicos, mais acessíveis aos receptores celulares da raiz.

Canellaset al. (2012) estudando as características químicas das substâncias húmicas com objetivo de observar os efeitos na indução de raízes laterais de plântulas de milho, verificou que apenas duas características químicas explicaram 88% de estímulo do crescimento radicular. Por meio de análise estatística multivariada os autores verificaram que os ácidos húmicos com maiores quantidades de carbonos de grupos alifáticos com oxigênio ligado, referente ao sinal de 40-110ppm na ressonância magnética nuclear (RMN), bem como, o índice de hidrofobicidade (relação entre o grau hidrofóbico e grau hidrofílico do AH) são as principais características no que diz respeito ao efeito bioestimulante no crescimento radicular. Desse trabalho foi possível inferir, com a utilização da análise de RMN, se o AH proveniente de SH, tem a propriedade de estimular o crescimento radicular com a emissão de raízes laterais.

A avaliação do potencial das SHs sobre o crescimento e desenvolvimento vegetal de culturas de interesse agrônomo tem sido explorada em experimentos de casa de vegetação (FAÇANHA et al., 2002; CHEN; CLAPP; MAGEN, 2004; CANELLAS; FAÇANHA, 2004; MARQUES JR. et al., 2008). Nesses experimentos têm sido observados resultados que refletem a aceleração das taxas de crescimento radicular, incremento de biomassa vegetal e alterações na arquitetura do sistema radicular (MARQUES JR. et al., 2008). Marques Jr. et al. (2008), trabalhando com minitoletes de cana-de-açúcar em casa de vegetação, observou incrementos na massa seca da parte aérea e da raiz, no comprimento e na área radicular nos tratamentos com ácido húmico em relação ao controle.

Nesse sentido, fundamentando-se na teoria e observações do efeito bioestimulante das SHs, faz-se necessário avaliar quais as consequências positivas proporcionadas por essas substâncias. Para tanto, é válido avaliar o incremento e mudanças na morfologia radicular, o aumento da produção da parte aérea da planta e também incremento na eficiência do uso dos insumos, tais como os fertilizantes.

## **2.4 Substâncias húmicas e dinâmica do nitrogênio na interface solo-planta**

Finck (1986) avaliou que os fertilizantes, dentre os insumos agrícolas essenciais para o desenvolvimento das plantas, são os responsáveis pela maior fração do consumo energético fóssil durante o processo produtivo. Segundo Franco e Saraiva Neto (2008), a produção de fertilizantes representa cerca de 1% de todo o consumo mundial de energia, sendo que 93% desse total são utilizados para produção de fertilizantes nitrogenados, tais como a ureia. Nesse sentido, somando-se a questão ambiental causado pelo uso inadequado de fertilizantes nitrogenados, fica evidente a necessidade de desenvolvimento de tecnologias e/ou manejos que visem o aumento na eficiência e uso racional desses insumos.

Uma das possibilidades de ganhos em eficiência de uso da ureia pode ser a utilização do fertilizante associado às substâncias húmicas. Zheng, 1991<sup>3</sup>, apud Donget al. (2008) observou efeito sinérgico na associação de ácidos húmicos provenientes de Lignito (carvão mineral) com ureia, em relação à aplicação apenas de ureia convencional. No entanto, pouco se sabe a respeito do mecanismo pelo qual os ácidos húmicos auxiliam no aumento da eficiência do uso do N-ureia.

Segundo Malavolta (1981) quando adicionada ao solo a ureia é rapidamente convertida em carbonato de amônio. Devido à instabilidade do carbonato de amônio em meio de pH ácido, o mesmo decompõe-se em amônia e gás carbônico. A amônia produzida, na presença de água e em pH ácido é protonada, transformando-se em amônio. A velocidade desta sequência reativa depende, inicialmente, da urease que é a enzima que ativa a hidrólise da ureia. A urease é uma enzima extracelular produzida por bactérias, actinomicetos e fungos do solo e também é originada de restos vegetais (REYNOLDS; WOLF; ARMBRUSTER, 1985).

---

<sup>3</sup>ZHENG, P. **The application and production of peat humic acids**. Beijing: Chemical Industry Press, 1991.

Donget al. (2008) estudaram o efeito de ácidos húmicos de origem de carvão mineral, na atividade e estabilidade da urease. No estudo foi observado que a atividade da urease foi menor quando a enzima esteve associada com os ácidos húmicos do que quando estava livre. A redução da atividade da urease pode reduzir a velocidade da hidrólise da ureia, assim retarda e reduz às perdas por volatilização, bem como, permite o deslocamento da ureia para horizontes mais profundos do solo (CARMONA et al., 1990).

Em adição à possibilidade de redução na atividade da urease, as substâncias húmicas por meio do seu potencial de adsorção, conseguem regular a disponibilidade de  $\text{NH}_3$  gerada na hidrólise da ureia (MACKOWIAK et al., 2001). Vários trabalhos indicam que o  $\text{NH}_3$  pode ser fixado abioticamente à matéria orgânica do solo, lignina, turfa ou carvão (NOMMIK; VATHRAS, 1982; LAPIERRE et al., 1994). Nesse sentido o  $\text{NH}_3$  pode ser incorporado aos radicais orgânicos das SH auxiliando na redução de perdas do fertilizante.

Após a hidrólise da ureia, a amônia ou amônio é rapidamente oxidada a nitrito e posteriormente a nitrato. Dois grupos de bactérias autotróficas, Nitrosomonas e Nitrobacter, são as principais responsáveis pela oxidação da amônia, sendo a primeira responsável pela transformação da amônia a nitrito e a segunda pela oxidação do nitrito a nitrato. Donget al. (2009), verificaram que houve redução da população de bactérias que oxidam o amônio quando houve aplicação da ureia com SH em relação a aplicação isolada de ureia. No mesmo trabalho foi verificado que houve menor nitrificação quando a ureia esteve associada com SHs, indicando que as SHs mantêm o nitrogênio na forma amoniacal.

Além do efeito das SH na dinâmica da transformação do N-ureia no solo, as SH também atuam na disponibilidade e absorção do nitrogênio no sistema radicular da planta. Visando analisar o aumento da atividade da  $\text{H}^+$ -ATPase por meio do uso de substâncias húmicas, Quaggiotti et al. (2004) estudaram a absorção de nitrato. Sabe-se que a principal via para absorção do nitrato é o co-transporte com íons  $\text{H}^+$ ; além disso, sabe-se, também, que o aumento na absorção de nitrato ocorre paralelamente à elevação nos níveis de expressão da  $\text{H}^+$ -ATPase na membrana plasmática e de sua atividade (CANELLAS et al., 2005). No estudo, Quaggiotti et al. (2004) mostraram que o uso de substâncias húmicas estimulou a absorção de nitrato nas raízes, bem como, o acúmulo do ânion nas folhas de milho. Nesse



estudo, Quaggiotti et al.(2004) verificou que houve aumento, com o uso de substâncias húmicas, da transcrição gênica do gene *Mha2*, isoforma da H<sup>+</sup>-ATPase nas raízes, bem como, aumento da expressão do *ZmNrt2.1*, gene que codifica um transportador de alta afinidade para o Nitrato na parte aérea das plantas de milho. Dessa forma é possível observar o estímulo das substâncias húmicas no sentido do aumento da eficiência do uso do nitrogênio no sistema, principalmente do nitrato, forma mineral mais abundante nos solos tropicais de alta drenagem.

Em suma, é interessante que estudos sejam desenvolvidos no sentido de verificar se as substâncias húmicas são capazes de alterar a dinâmica de hidrólise da ureia e as transformações das formas minerais do nitrogênio no solo, bem como aumentar a disponibilidade do N-ureia e eficiência de absorção do nutriente pela planta.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Experimento em Casa de Vegetação**

##### **3.1.1 Instalação, delineamento experimental e condução**

Foi instalado experimento em casa de vegetação do Departamento de Ciências do Solo da ESALQ/USP, em Piracicaba, Estado de São Paulo, durante os meses de Abril e Julho de 2013 com cultivar RB855453 de cana-de-açúcar.

O cultivar RB855453 foi escolhido devido a sua participação entre os mais plantados no Estado de São Paulo. Segundo Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro - RIDESA (2012), o cultivar RB855453 correspondeu às 3ª (7,8% da área total, totalizando 240 mil hectares) e 4ª (6,1% da área total, totalizando 33 mil hectares) colocações em cultivo e plantio no Estado de São Paulo, respectivamente. Outro fator determinante para a escolha do cultivar foi à alta exigência em ambiente (RIDESA, 2010), uma vez que era desejado obter respostas mais evidentes entre tratamentos.

Para instalação do experimento foram utilizados vasos plásticos de 16 dm<sup>3</sup>, completados com 14 dm<sup>3</sup> de areia lavada como substrato. A caracterização química do substrato encontra-se na Tabela 1 e é referente à média de três amostras enviadas para o Laboratório de Análises de Solo do departamento de Ciência do Solo da ESALQ/USP.

A escolha da areia lavada como substrato foi definida, devido ao menor estoque de nutrientes, especialmente o Nitrogênio, que foi objeto do estudo. É importante observar que os teores de nutrientes mostrados na Tabela 1, foram mais baixos que o limite de detecção dos aparelhos adotados nos métodos, indicando que realmente o estoque inicial era baixo.

Para correção nutricional do substrato, foi utilizada a recomendação para experimentos em vasos com terra (MALAVOLTA 1980; NOVAIS et al., 1991), visando o fornecimento dos macros (exceto o Nitrogênio) e micronutrientes, bem como, o ajuste da saturação por base (V%).

Tabela 1 - Caracterização química da areia lavada, substrato utilizado no experimento

pH	MOS	P	S	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	V	m
CaCl <sub>2</sub>	g dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>									%
5,2	3	2,7	<4	<0,7	<3	<1	<1	8	2,5	10,5	24,3	2

Fósforo (P) por colorimetria extraído com resina trocadora de íons, pH CaCl<sub>2</sub>, potássio (K) em espectrofotômetro de emissão atômica extraído com resina trocadora de íons, cálcio (Ca) e magnésio (Mg) em espectrofotômetro de absorção atômica extraído com resina trocadora de íons, alumínio trocável (Al) por colorimetria extraído com cloreto de potássio, acidez potencial (H+Al) extraído com tampão SMP, enxofre (S - sulfato) por turbidimetria extraído com fosfato de cálcio; SB: Soma de bases trocáveis; CTC: Capacidade de troca de cátions; V: Saturação da CTC por bases; m: Saturação por Alumínio

As fontes de nutrientes usadas (reagentes para análise) e suas dosagens são apresentadas na Tabela 2. A mistura das fontes de nutrientes com o substrato para fornecimento de macronutrientes às plantas foi realizada com auxílio de uma betoneira, visando maior homogeneização dos produtos com a areia lavada. Para os fertilizantes com micronutrientes, foi feita uma solução, deixando apenas o Fe-EDTA separadamente, e aplicados em três parcelas iguais, a cada 15 dias.

Após a aplicação das fontes de nutrientes aplicou-se água a 70% da capacidade máxima de retenção (ver método pág. 29), e o solo das unidades experimentais ficaram incubados durante 20 dias. Durante esse período, foram preparadas as mudas de cana-de-açúcar.

Tabela 2 - Fertilizantes e doses utilizadas para fornecimento de nutrientes para cana-de-açúcar

Nutriente	Fornecimento	Fertilizante	Teor do Nutriente	Dose por Vaso
	mg dm <sup>-3</sup>		%	g
P	120	Fosfato de Potássio*	23	7,4
K	150	Fosfato de Potássio*	29	7,4
Ca	50	Sulfato de Cálcio*	24	3,0
Ca	150	Carbonato de Cálcio	40	5,3
Mg	50	Óxido de Magnésio	60	1,2
S	40	Sulfato de Cálcio*	19	3,0
B	0,5	Ácido bórico	17	0,0
Cu	1,3	Sulfato de Cobre	24	0,1
Fe	2	Fe-EDTA	20	0,1
Mn	3	Sulfato de Manganês	25	0,2
Mo	0,1	Ácido Molíbdico	39	0,0
Zn	4	Cloreto de Zinco	45	0,1

\*Fertilizantes utilizados em dose única para fornecimento de mais de um nutriente

Devido à ampla diversidade e baixa uniformidade da brotação das gemas da cana-de-açúcar, seguiu-se método de produção das mudas proposto por Oliveira (2010). Foram colhidos colmos da variedade RB855453 aos oito meses do desenvolvimento de cana-de-açúcar, de segundo corte. Foram selecionadas apenas as três gemas centrais dos colmos colhidos e então foram cortados, com ajuda de uma serra de disco, minitoletes de 3 cm contendo apenas uma gema. Os minitoletes foram então plantados em bandejas com areia lavada, mantidos em casa de vegetação e irrigados diariamente com água deionizada. No total foram plantados 500 minitoletes com intuito de, após a brotação, obter os 100 mais homogêneos, para uso no experimento (Figura 2). Não foram utilizados colmos com indícios de ataque por broca da cana-de-açúcar, bem como, gemas danificadas.



Figura 1 - Preparo dos minitoletes. Corte dos toletes em serra de corte obtendo minitoletes com 3 cm (a); disposição do plantio dos minitoletes em bandejas com areia (b); visão geral das bandeiras (c), e seleção dos minitoletes com plântulas mais homogêneas (d)

Após a incubação dos solos das unidades experimentais e no momento em que as mudas estavam aptas para serem selecionadas e replantadas, foram

estabelecidos os tratamentos. Para tanto foi elaborado um delineamento experimental inteiramente casualizado com 16 tratamentos e cinco repetições, correspondendo a um esquema fatorial completo com quatro doses de nitrogênio na forma de ureia: 0; 100; 200 e 300 mg dm<sup>-3</sup> de N e 4 doses de SH: 0; 13,8; 27,6; 41,7 mg dm<sup>-3</sup> de C.

As doses de nitrogênio foram estabelecidas seguindo a recomendação de Malavolta (1980) e Novais et al. (1991) para experimentos em vasos com terra.

A aplicação dos tratamentos bem como, o plantio do minitoletespré-brotados ocorreu no dia 8 de Abril de 2013.

Antes dos transplantes das mudas os tratamentos foram aplicados ao substrato de cada unidade experimental. Isso foi feito removendo-se para sacos plásticos, cerca de 2 dm<sup>-3</sup> do substrato de cada vaso, aplicando-se nessa porção as soluções referentes aos tratamentos, que foram aí distribuídas e homogeneizadas (Figura 3). Após homogeneização do substrato com os tratamentos, a areia foi recolocada nos vasos de 16 dm<sup>-3</sup>. Logo após a aplicação de todos os tratamentos, cada vaso foi irrigado com 1L de água deionizada, objetivando-se que os produtos aplicados se distribuíssem em todo o volume do vaso uniformemente.

Finalmente, após a aplicação dos tratamentos e seleção das mudas, foi feito o transplante das mudas para os vasos do experimento, utilizando apenas uma planta por vaso.



Figura 2 - Procedimento realizado para aplicação dos tratamentos. Amostragem de 2 dm<sup>3</sup> de substrato (a), aplicação dos tratamentos (b), homogeneização dos tratamentos + substrato com saco plástico (c), retorno do substrato tratado para os vasos (d)

Para condução do experimento, a cada dois dias eram feitas as irrigações dos vasos mediante a aferição da massa dos vasos com balança eletrônica.

A definição da quantidade de água a ser irrigada nos vasos foi calculada através da capacidade máxima de retenção de água (CRMA) do substrato utilizado, segundo método proposto por Souza et al. (2000). Nesse sentido realizou-se um ensaio prévio com oito recipientes plásticos cujo fundo possuía pequenos orifícios (<1mm), cada um contendo 50g do substrato seco em estufa a 105°C, durante 48h. Os recipientes foram então colocados em bandejas contendo lâmina de 10 mm de água para que absorvessem por capilaridade a água e foram mantidos, assim, por 12 horas. Após esse período, os recipientes foram removidos da água e colocados sob uma malha metálica perfurada visando à drenagem do excesso de água. Durante essa etapa, que durou 24 horas, foi colocada sobre os recipientes uma proteção para evitar a evaporação da água. Seguindo esse procedimento, os recipientes foram pesados, momento este em que se determinou a CRMA. Na condução do experimento foi definido irrigar 70% da CRMA.

Durante o experimento foi utilizado um *datalogger* que registrou a média da temperatura ambiente (°C) e a umidade relativa do ar (%) da casa de vegetação. Os dados médios referentes ao período de condução do experimento são descritos na Figura 4.

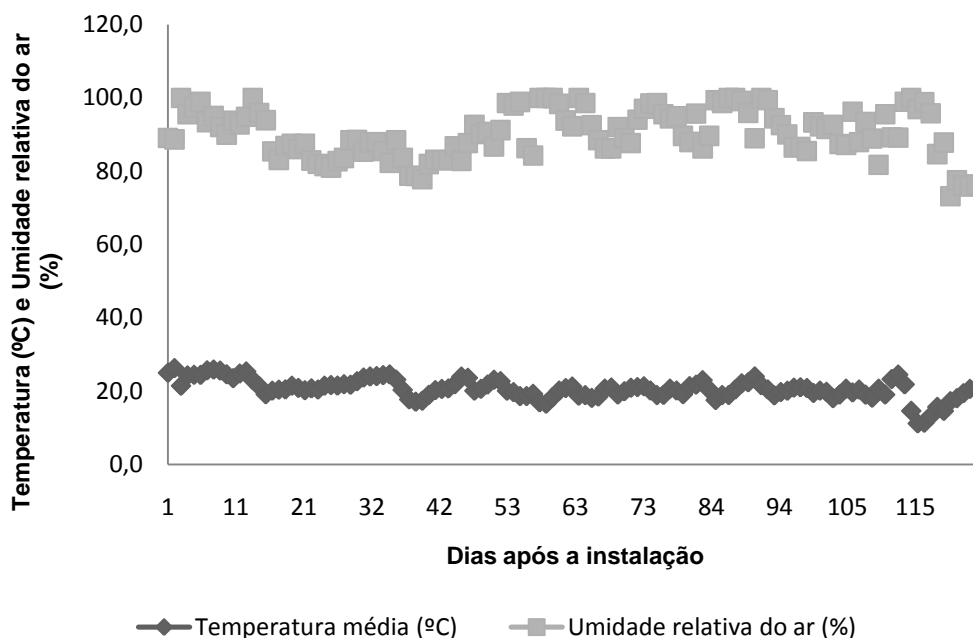


Figura 3 - Valores médios de temperatura (°C) e de umidade relativa do ar (%) na casa de vegetação durante o período do experimento

### 3.1.2 Preparo e caracterização das Substâncias Húmicas

Como fonte de substâncias húmicas (SH), foi utilizada turfa, a qual foi submetida a um processo de extração, sendo o produto desse processo um líquido a base de SHs.

O processo para a produção das SH seguiu o fracionamento químico da turfa de acordo com a técnica da solubilidade diferencial conforme método padrão de extração ácido-base (HAYES et al., 1989), sem a posterior purificação das SH obtidas (Figura 4).

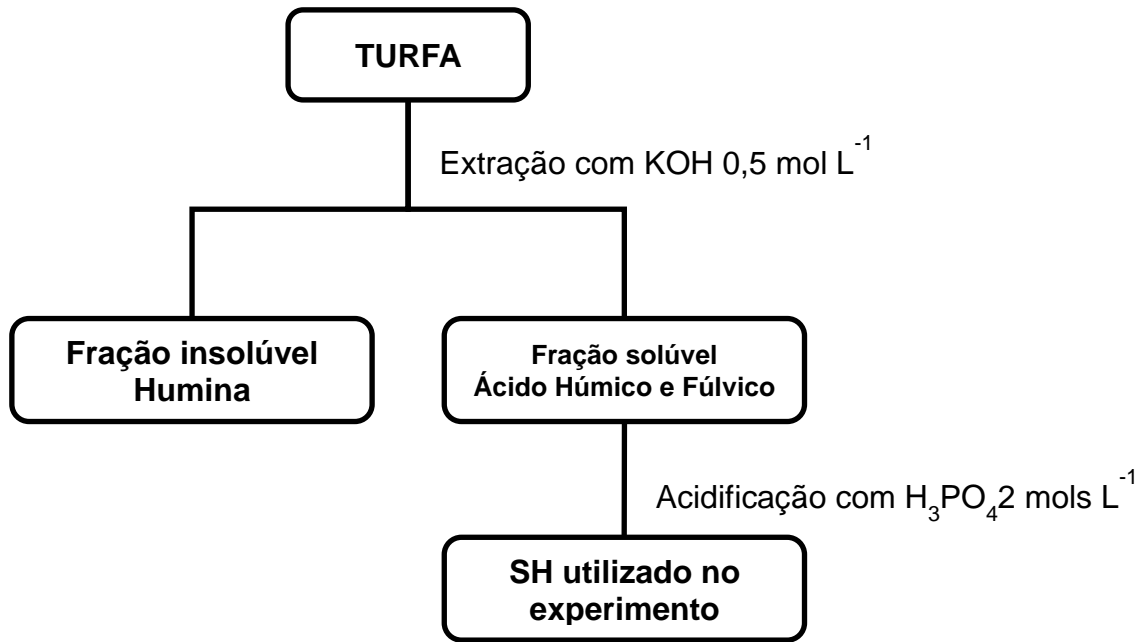


Figura 4 - Método utilizado para extração e preparo da SH

Para caracterização das SH, as amostras foram, também, submetidas ao processo de extração descrito por Hayes et al. (1989) porém foi realizada a purificação dos produtos conforme é mostrado na Figura 5, utilizando-se os conceitos de frações húmicas estabelecidos pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (ISHS).

O ácido húmico obtido por meio do processo indicado na Figura 5 foi então submetido à Ressonância Magnética Nuclear (RMN  $C^{13}$  CP/MAS-TOSS) visando obter as características químicas e os principais grupos orgânicos que compunham o material. Para tanto os espectros de RMN  $C^{13}$  CP/MAS-TOSS foram divididos em cinco regiões químicas diferentes: 0-45 ppm- carbonos de grupos alifáticos simples (CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>); 45-90 ppm- carbonos de grupos alifáticos com oxigênio ligado (CHOH, CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>2</sub>-O-); 90-160 ppm- carbonos de grupos aromáticos (CH, C); 160-190 ppm- carbonos de grupos carboxílicos e ésteres (COOH, COO-R); 190-250 ppm- carbonos de cetonas, quinonas e aldeídos (C=O, CH=O) (FRANCIOSO et al., 1996; CHRISTL et al., 2000; CHEN et al., 2002).

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.



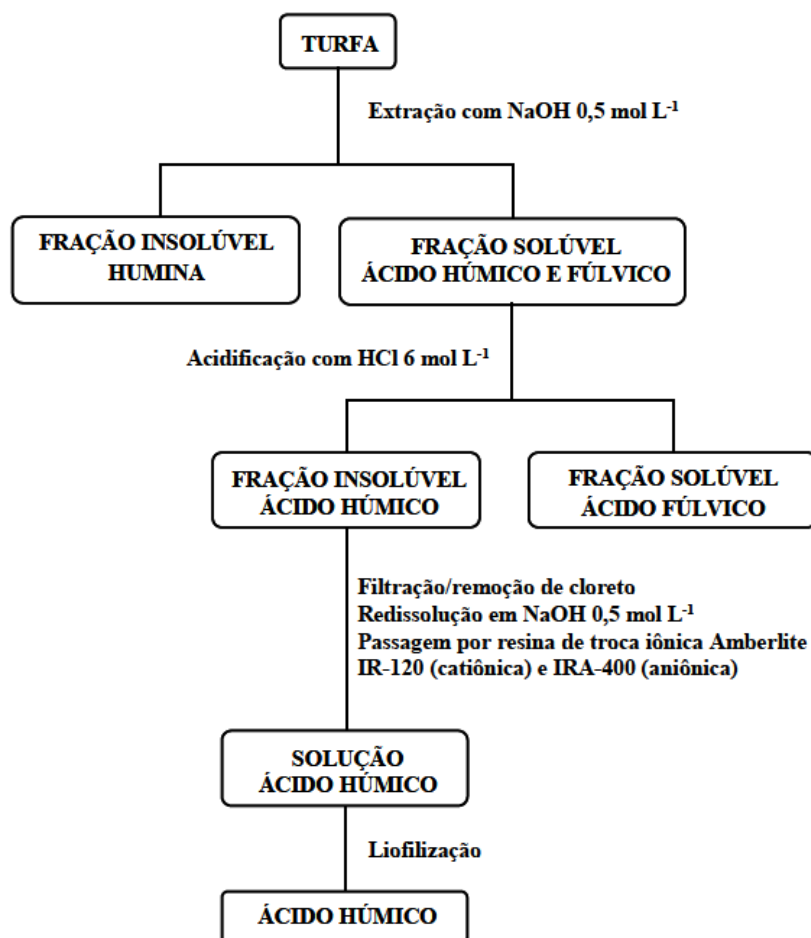


Figura 5 - Extração e purificação de ácidos húmicos modificada por Griffith e Schnitzer (1975); Barros, Paula e Rezende(1994)

### 3.1.3 Preparo das soluções de substâncias húmicas e ureia

Os tratamentos foram aplicados em forma de solução com o auxílio de pipetas calibradas. Para a elaboração das soluções dos tratamentos foram utilizadas as SH extraídas da turfa, ureia PA e água deionizada. Abaixo segue a Tabela 3 detalhando as soluções elaboradas, bem como as doses utilizadas.

Tabela 3 - Tratamentos e soluções elaboradas para a instalação do experimento

Tratamentos	N mg dm <sup>-3</sup>	SH mg dm <sup>-3</sup> de C <sup>a</sup>	Solução #	Ureia -----g vaso <sup>-1</sup> -----	Água	SH	N %	Volume Solução -----g vaso <sup>-1</sup> -----
1	0	0	0	0	0	0,0	0	0,0
2	100	0	1	3,1	6,6	0,0	15	9,7
3	200	0	1	6,2	13,2	0,0	15	19,4
4	300	0	1	9,3	19,8	0,0	15	29,1
5	0	13,8	2	0,0	0,0	6,6	0	6,6
6	0	27,6	2	0,0	0,0	13,2	0	13,2
7	0	41,4	2	0,0	0,0	19,8	0	19,8
8	100	13,8	3	3,1	0,0	6,6	15	9,7
9	200	13,8	4	6,2	6,6	6,6	15	19,4
10	300	13,8	5	9,3	13,2	6,6	15	29,1
11	100	27,6	6	3,1	0,0	13,2	9	16,3
12	200	27,6	3	6,2	0,0	13,2	15	19,4
13	300	27,6	7	9,3	6,6	13,2	15	29,1
14	100	41,4	8	3,1	0,0	19,8	6	22,9
15	200	41,4	9	6,2	0,0	19,8	11	26,0
16	300	41,4	3	9,3	0,0	19,8	15	29,1

a: % de Carbono determinada pelo método do tubo de digestão (Walkley Black modificado)(NELSON et al., 1996) considerando a média de 3 análises da SH

### 3.1.4 Avaliações morfológicas do sistema radicular e parte aérea das plantas

Na colheita do experimento realizada no dia 11 de junho, aos 63 dias após o transplante das mudas, foram realizadas avaliações morfológicas da parte aérea das plantas (Figura 6) tais como: altura das plantas (AP); diâmetro do colmo (DC); área foliar (AF) e número de folhas (NF). Para aferição da AP, foi utilizada uma régua de 50 cm e tomada medida da altura correspondente à base da planta no nível do substrato até a última folha totalmente expandida, ou seja, folha com aurícula visível.

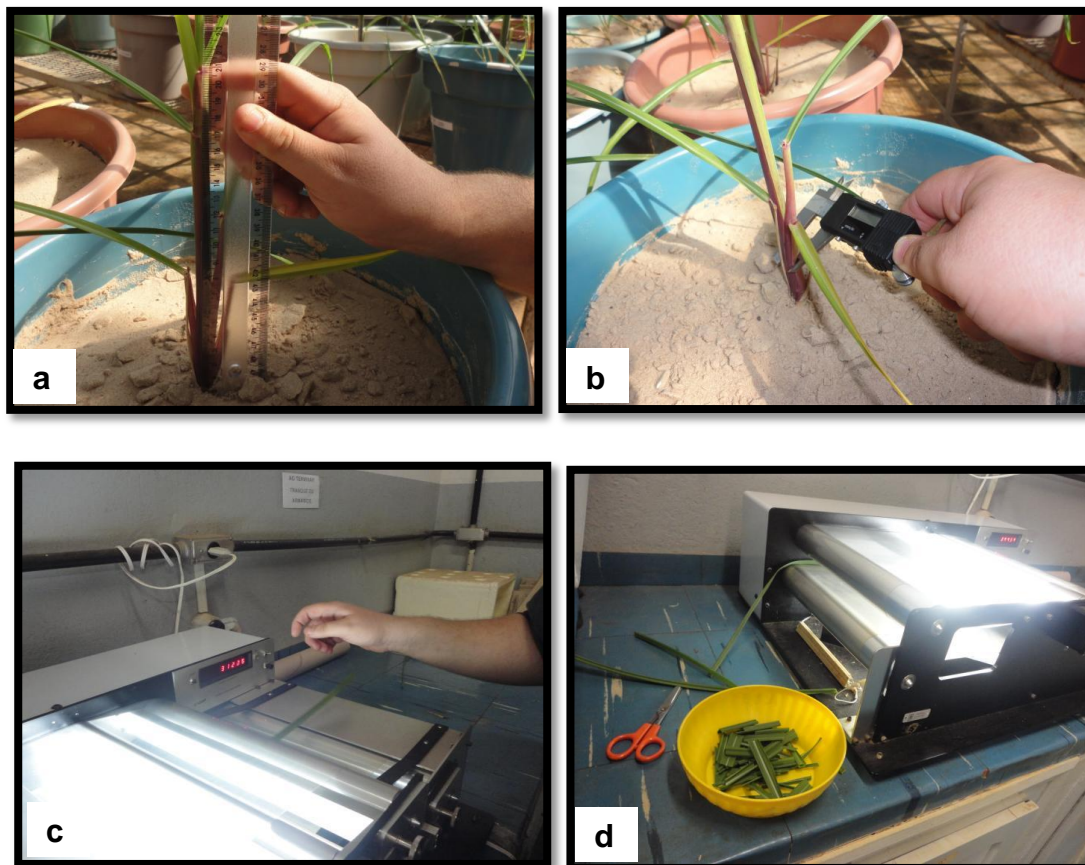


Figura 6 - Determinação dos parâmetros morfológicos da parte aérea. Altura das plantas (a), diâmetro do colmo (b), área foliar e número de folhas (c e d)

A quantificação do diâmetro do colmo foi realizada com um paquímetro digital à altura de 3 cm do nível do substrato. A AF e o NF foram determinados logo após o corte das plantas, que foi feito rente ao substrato. A AF foi quantificada pelo aparelho LI-3100 Area Meter Li-cor inc. Lincoln, Nebraska USA e o NF foi determinado, simultaneamente, conforme as folhas eram inseridas no scanner.

Para as avaliações morfológicas do sistema radicular após serem feitas as coletas da parte aérea, todo o conteúdo de substrato e raízes foi transferido com peneira de malha quadriculada de 1 mm, visando evitar perdas de material vegetal. Na separação das raízes do substrato foi utilizada água corrente, eliminando-se a areia que passava pela malha da peneira. Esse processo reduz os danos mecânicos quando comparado com a peneiração a seco. Após lavagem, todo o sistema radicular de cada unidade experimental (vaso) foi mantido em frascos de vidro contendo etanol, com 70% de concentração (m/m) para minimizar alterações morfológicas e decomposição. Finalizado o preparo das amostras, as mesmas foram fotografadas usando-se cabine fotográfica especial desenvolvida no Laboratório de

Isótopos Estáveis do CENA/USP em que se adaptava uma máquina fotográfica Canon EOS 7D Digital Photo Professional, que gerou fotos de 600 DPI de resolução. A cabine utilizada possui um painel luminoso e sobre o painel ficava uma cuba de acrílico de 0,8 x 1,0 x 0,05 m (largura, comprimento e altura respectivamente) que era preenchida com lâmina de água até atingir 0,02 m de altura. Após imersão das amostras e separação das raízes com objetivo de reduzir a sobreposição, a cabine era então fechada e as fotos foram tiradas usando-se um software (Canon Digital Photo Professional) da câmera, instalado em um “notebook”. Antes de tirar a foto, o foco e o brilho foram ajustados no software para obter a melhor resolução possível e maior definição das raízes mais finas.

As fotos de todo o sistema radicular da cana-de-açúcar foram submetidas ao software de análises de imagem WinRHIZO (RegentInstrumentsInc., Quebec, Canada, 2000). Os parâmetros determinados pelo Winrhizo foram: Comprimento das raízes (m); Área superficial ( $m^2$ ); Diâmetro médio (cm); e Volume de raiz ( $m^3$ ). O software também estratificou em classes de diâmetros as raízes em 4 categorias: A) 0 a 0,5mm; B) 0,5 a 2,0 mm; C) 2,0 a 5,0 mm; e D) 5,0 a 10,0 mm. No entanto, apenas os diâmetros A e B apresentaram valores e foram utilizados na análise estatística. Todo o processo de preparo das raízes e análises é mostrado em sequência nas Figuras 7a, 7b e 7c.

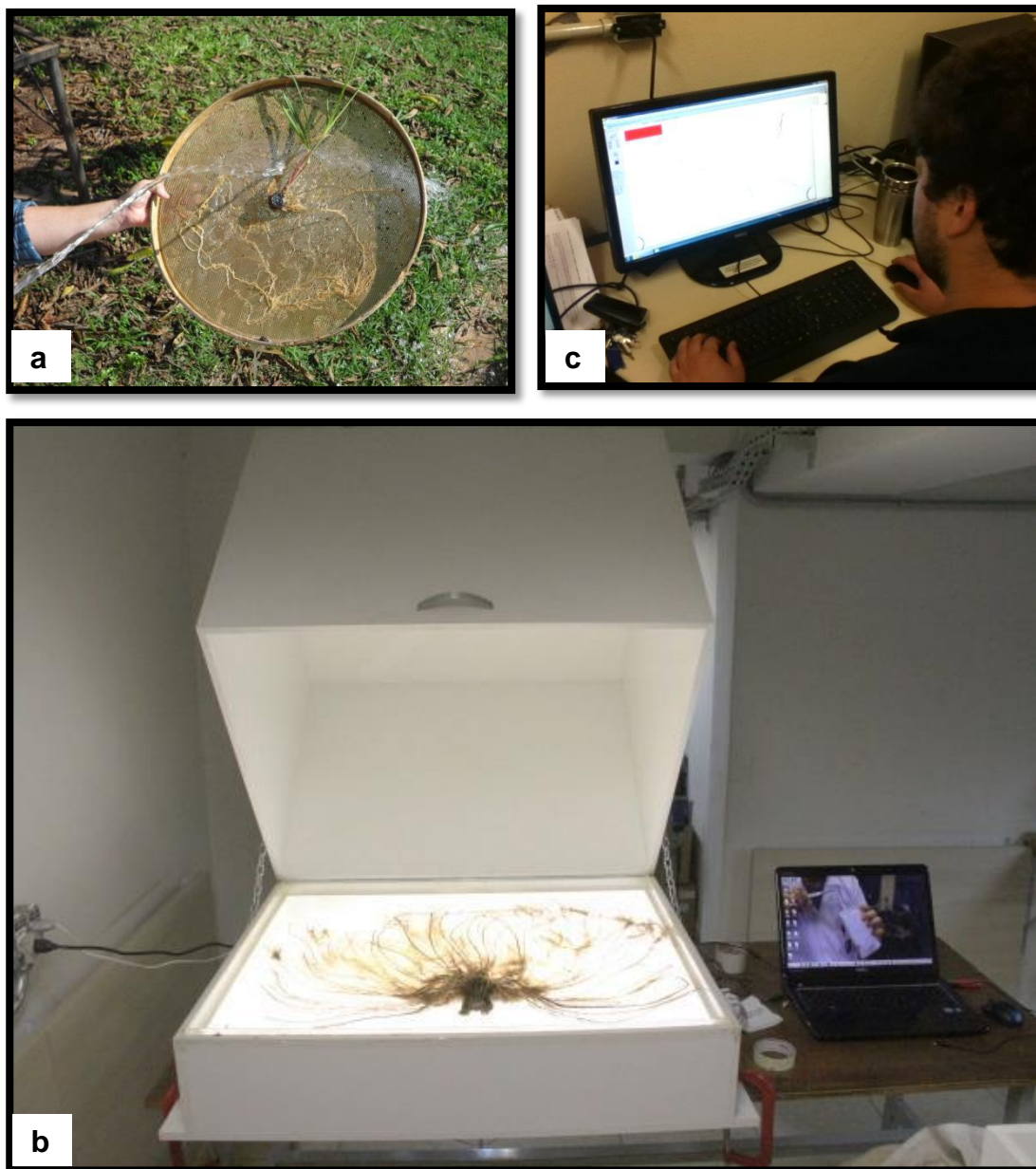


Figura 7 - Preparo e avaliações do sistema radicular. Lavagem das raízes com ajuda de peneira de 1mm (a), câmara de fotografia elaborada no CENA/USP para tirar fotos das raízes em alta resolução (b) e análise das imagens no software winrhizo (c)

### 3.1.5 Análise do tecido vegetal

Concluídas as avaliações morfológicas descritas no item 3.1.4, o sistema radicular (SR) e a parte aérea (PA) de cada planta foram secos em estufa de circulação forçada de ar a 65°C. As amostras secas, após aferição da massa (item 3.1.4), foram moídas em moinhos de faca (tipo Wiley) sendo posteriormente determinado o N-total em espectrômetro de massas HYDRA modelo 20/20, acoplado a um analisador automático ANCA-GSL, da SerconCo., UK.

### **3.1.6 Procedimentos estatísticos**

As análises estatísticas foram efetuadas com auxílio do software Statistical Analysis System (SAS INSTITUTE, 2004). Para verificar se houve significância na interação SH e N, foi realizado o teste F e quando foi significativo utilizaram-se análises de regressão polinomial por meio do procedimento RSREG do SAS. Os resultados de regressões polinomiais significativas foram inseridos no software Sigmaplot e gerados gráficos de superfície de resposta de duas dimensões. Adotou-se, nas equações geradas, a utilização de um asterisco (\*) para nível de significância de 5%, dois asteriscos para 1% e três para 0,1% no nível de significância.

Para as variáveis respostas que não mostraram significância na interação dos produtos testados, foram realizadas análises de regressão para as doses de cada produto.

## **3.2 Experimento de Incubação de solo**

### **3.2.1 Instalação, delineamento experimental e condução**

Objetivou-se com esse experimento avaliar a dinâmica do nitrogênio promovida pelas SH utilizando as mesmas condições (substrato, irrigação e condições de temperatura e umidade) do experimento com cana-de-açúcar. Para isso foi instalado experimento em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da ESALQ/USP (Figura 8b) durante os dias 27 de junho a 27 de julho de 2013.

Foram utilizados recipientes de plásticos contendo 2 dm<sup>3</sup> (Figura 8a) de areia lavada que foi submetido aos mesmos procedimentos adotados no experimento de casa de vegetação, tanto no que diz respeito à correção do substrato quanto às soluções e tratamentos utilizados, adequando-se as doses ao volume menor de substrato utilizado. Foram realizadas oito coletas ao longo da condução do experimento para avaliar as alterações nas concentrações das formas minerais do N com o tempo.

As unidades experimentais (recipientes plásticos) constaram de três repetições para cada coleta e tratamento. As coletas das unidades experimentais foram

realizadas nos dias 27 e 28 de junho de 2013 (0 e 1 dias após a aplicação dos tratamentos, DAA. respectivamente) e nos dias 1, 4, 9, 13, 18 e 27 de julho de 2013 (aos 4, 7, 12, 16, 21 e 30 DAA, respectivamente). Após as coletas os recipientes foram mantidos a temperatura de -5°C.

Durante o experimento, o substrato foi irrigado, periodicamente, sendo que foram feitas oito irrigações durante a condução do experimento, objetivando-se obter 70% da capacidade máxima de retenção do substrato (ver método utilizado no item 3.1.1). As datas das irrigações foram as mesmas datas das coletas.

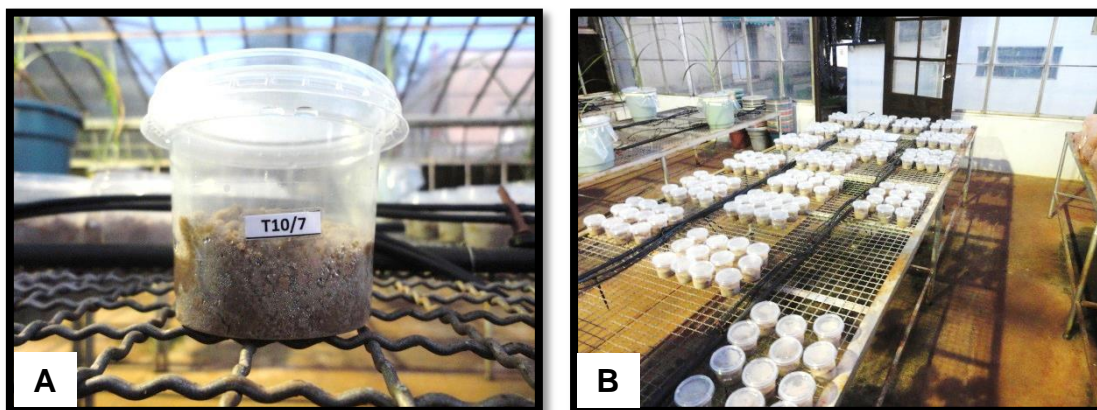


Figura 8 - Frasco plástico (unidade experimental) utilizado no experimento (a) e visão geral do experimento na casa-de-vegetação (b)

### 3.2.2 Extração e análise do N-mineral

A extração de formas inorgânicas do N do solo ( $\text{NH}_4^+$ ;  $\text{NO}_3^-$ ;  $\text{NO}_2^-$ ) seguiu método proposto por Buresh, Austin e Craswell (1982). Foram separadas duas porções de 10g de substrato de cada unidade experimental com intuito de realizar as análises em duplicatas de cada parcela e tratamento. Após a pesagem, o substrato contido em frascos de vidro do tipo SNAPCAP, recebeu 50 ml de KCl 2 mol  $\text{L}^{-1}$  obtendo proporção substrato e solução equivalente a 1:5 – m/v e foi submetido a agitação durante 1 hora. Após esse procedimento os extratos foram filtrados com papel de filtro de celulose.

Os extratos foram analisados em sistemas de análise por injeção em fluxo (FIA). O  $\text{NH}_4^+$  foi analisado através da formação de amônia em meio alcalino que foi separada da solução através da passagem por membrana seletiva de PTFE com posterior determinação em medidor de condutividade (REIS et al., 1997). O  $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$  foi determinado por espectrofotometria mediante a transformação do nitrato em

nitrito através de coluna de cádmio coperizado, o nitrito foi submetido à reação com sulfanilamida em meio ácido e então determinado (GINÉ, 1980).

Os valores das formas minerais de N foram corrigidos para o peso da massa seca do substrato, após a secagem de subamostrasdo substrato a 105°C em estufa por 48h.

### **3.2.3 Procedimentos estatísticos**

Os resultados do N mineral com a presença ou ausência das SH foi submetido à análise de variância e as médias ao teste Tukey a 0,05 de probabilidade.

Também foram gerados gráficos com as médias e erros padrões das médias das formas de N mineral, por coleta.





## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A temperatura e umidade da casa de vegetação onde foram instalados os experimentos com e sem planta, variaram pouco uma vez que existiam sistemas de controle de umidade, bem como, de temperatura. A temperatura teve média de  $25 \pm 1.5$  °C e a umidade relativa média de  $89 \pm 3.3\%$ .

Na determinação das doses de N-ureia, seguiu-se recomendação de Malavolta (1980); e Novais et al. (1991) para experimentos em vasos com terra. A dose máxima recomendada pelos autores é de  $300 \text{ mg dm}^{-3}$  de N-ureia que é recomendado para solos com maiores teores de argila. Neste experimento foi utilizado como substrato a areia lavada não sendo indicada a utilização da dose máxima de N-ureia. No entanto foi utilizada a dose visando estabelecimento do ponto de queda das avaliações, com objetivo de obter um modelo matemático mais abrangente. Porém a dose  $200 \text{ mg dm}^{-3}$  N-ureia já foi suficientemente alta para obter os decréscimos nos parâmetros avaliados e a dose  $300 \text{ mg dm}^{-3}$  N-ureia foi extremamente alta a ponto de não ser possível determinar valores e realizar as análises nas avaliações.

Nesse sentido, inviabilizou-se adição da dose  $300 \text{ mg dm}^{-3}$  N-ureia nos modelos devido a falta de resultados uma vez que as plantas, após a instalação, rapidamente morreram. O objetivo do experimento sem plantas era de relacionar a dinâmica das transformações do N-ureia com o ocorrido no experimento com plantas, nesse sentido também não foram apresentados os dados da dose  $300 \text{ mg dm}^{-3}$  N-ureia no experimento sem plantas.

### 4.1 Transformações no solo do N-ureia relacionadas com as substâncias húmicas

Na Figura 9 é apresentada a dinâmica da formação de amônio do N-ureia na dose  $100 \text{ mg dm}^{-3}$  aplicada isoladamente (UR100) e associada às três doses de SH (100SH1 = 13,8; 100SH2 = 27,6; e 100SH3 = 41,4  $\text{mg dm}^{-3}$  de C). Logo após aplicação dos fertilizantes (0 DAF), verificou-se que nas maiores doses de SH (100SH2 e 100SH3), a hidrólise seguida de formação de amônio do N-ureia, foram as que mais elevaram o teor de  $\text{N-NH}_4^+$  no substrato (areia lavada) (Figura 9 e

Tabela 4). A dose 100SH1 apresentou menor formação de amônio que as maiores doses de SH, porém, diferiu do tratamento com apenas a aplicação de  $100 \text{ mg dm}^{-3}$  de N-ureia. Do 0 aos 12 DAF, as maiores doses de SH (100SH2 e 100SH3) associadas com a dose  $100 \text{ mg dm}^{-3}$  de N-ureia foram superiores na quantidade de amônio presentes no substrato quando comparadas com a aplicação de ureia (Figura9 e Tabela 4), evidenciando estímulo da hidrólise e formação de amônio pelas SH. Para a dose 100SH1 até os 4 DAF ocorreu maiores concentrações de  $\text{N-NH}_4^+$  em relação a aplicação de ureia(Figura9 e Tabela4).

A partir dos 12 DAF os teores de  $\text{N-NH}_4^+$  começaram a diminuir devido à intensificação do processo de nitrificação (Figura 10). Entretanto, para os tratamentos 100SH2 e 100SH3 a redução da concentração de  $\text{N-NH}_4^+$  ocorreu até os 21 DAF, enquanto que os tratamentos UR100 e 100SH1 continuaram a decrescer, até o final dos 30 dias, com maior evidencia para o tratamento UR100 (Figura9 e Tabela4). A partir dos 21 DAF os tratamentos 100SH2 e 100SH3 voltaram a elevar os teores de  $\text{N-NH}_4^+$ , enquanto que o tratamento 100UR continuou a decrescer (Figura9).

Os resultados mostram que a SH auxiliou na manutenção do N mineral do solo na forma de  $\text{NH}_4^+$  mesmo tendo a nitrificação se intensificado. No tratamento UR100, ao final dos 30 dias a concentração de N-amônio ficou próxima de zero, o que indicou que toda ou a grande parte da ureia, na ocasião, já havia sido hidrolisada, o N amonificado e transformada em nitrato (Figura9 e 10). No caso dos tratamentos com ureia e SH, aos 30 DAF ainda foi possível observar, mesmo com a hidrólise de grande fração do N-ureia, concentrações de N-amônio no substrato (Figura9), e conseqüentemente menores teores de nitrato (Figura 10), evidenciando que as SHspropiciaram alguma forma de inibição da nitrificação, mantendo o N-ureia na forma de amônio.

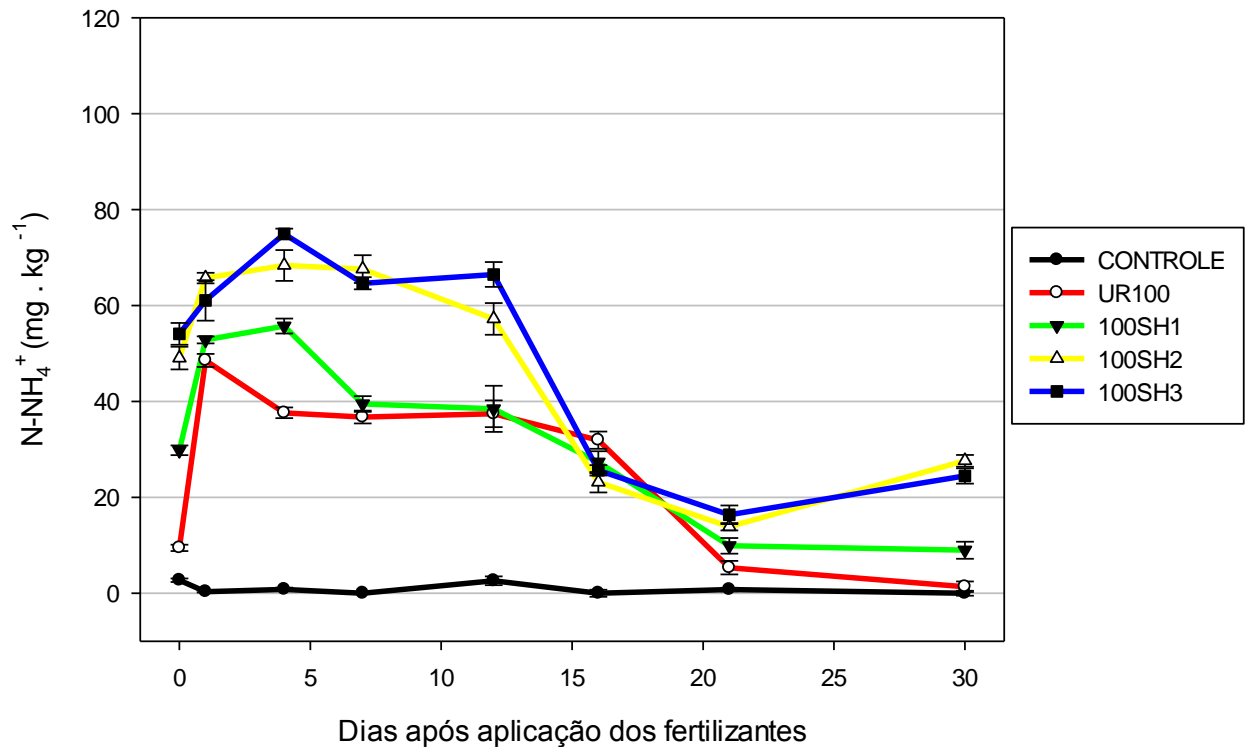


Figura 9 - Concentração de  $N-NH_4^+$  nos tratamentos com  $100 \text{ mg dm}^{-3}$  de N-ureia. Barras de erro indicam o erro padrão da média

Tabela 4 - Teste de médias de Tukey a 5% da concentração de  $N-NH_4^+$  dos tratamentos com  $100 \text{ mg dm}^{-3}$  de N-ureia

Tratamentos	Dias após a aplicação dos fertilizantes							
	0	1	4	7	12	16	21	30
Controle	D	D	D	C	C	C	D	C
UR100	C	C	C	B	B	A	CD	C
100SH1	B	BC	B	B	B	AB	BC	B
100SH2	A	A	A	A	A	B	AB	A
100SH3	A	AB	A	A	A	AB	A	A

No que diz respeito ao efeito das doses de SH na nitrificação do N-ureia, na dose  $100 \text{ mg dm}^{-3}$  (Figura 10), pode se observar que a partir dos 12 DAF o processo foi intensificado. Na última coleta, aos 30 DAF, as doses mais altas de SH (100SH2 e 100SH3) diferiram da dose mais baixa de SH, bem como do tratamento com apenas ureia (Figura 10 e Tabela 5). À medida que foi aumentada a dose de SH a nitrificação foi reduzida, mesmo com a maior concentração de  $N-NH_4^+$ , que os tratamentos com as maiores doses de SH apresentaram.

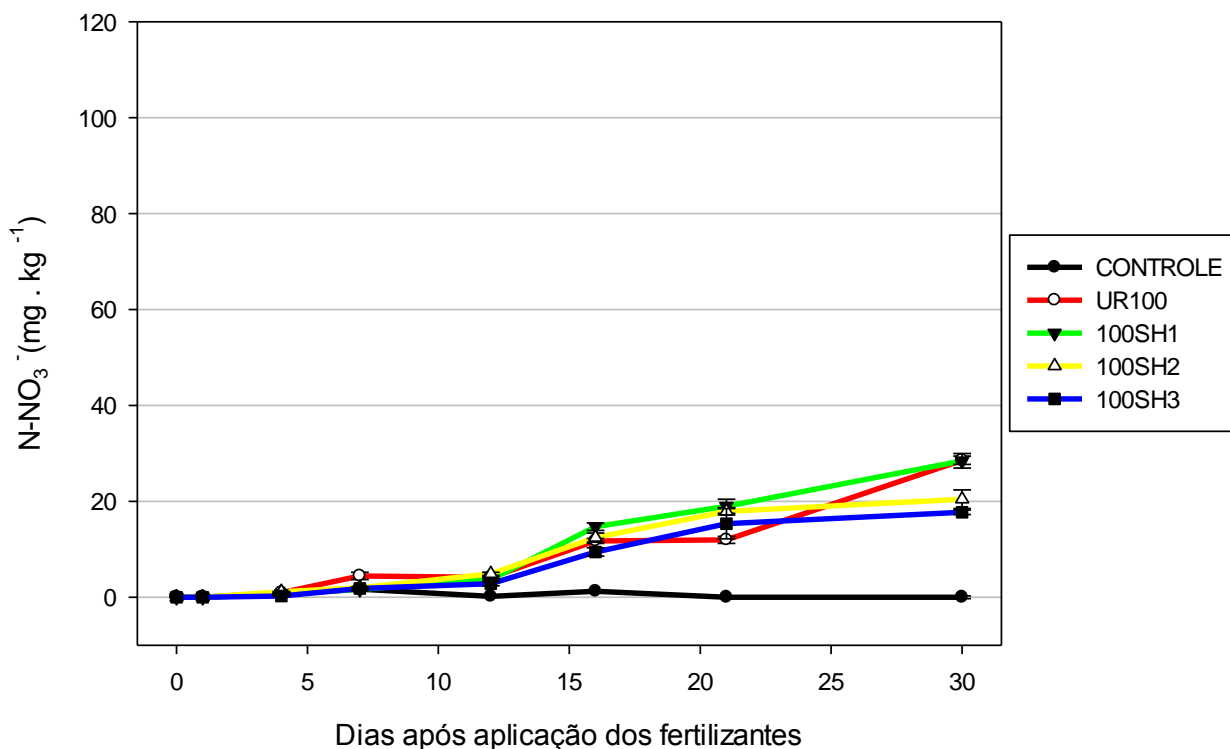


Figura 10 - Concentração de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> nos tratamentos com 100 mgdm<sup>-3</sup> de N-ureia. Barras de erro indicam o erro padrão da média

Tabela 5 - Teste de médias de Tukey a 5% da concentração de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> dos tratamentos com 100 mgdm<sup>-3</sup> de N-ureia

Tratamentos	Dias após a aplicação dos fertilizantes								
	0	1	4	7	12	16	21	30	
Controle	A	A	BC	B	C	C	C	C	
UR100	A	A	AB	A	A	AB	B	A	
100SH1	A	A	AB	B	AB	A	A	A	
100SH2	A	A	A	B	A	AB	AB	B	
100SH3	A	A	C	B	B	B	AB	B	

De maneira geral, as SH favoreceram a hidrólise da ureia, bem como a formação de amônio e de alguma forma reduziram a nitrificação, durante o período do experimento.

Na Figura 11, ao final dos 30 dias de incubação do substrato, observa-se que as SHs, apresentaram maiores níveis de nitrogênio mineral total (Figura 11 e Tabela 6), o que pode indicar que nesses tratamentos ocorreram menores perdas do N-ureia do solo.

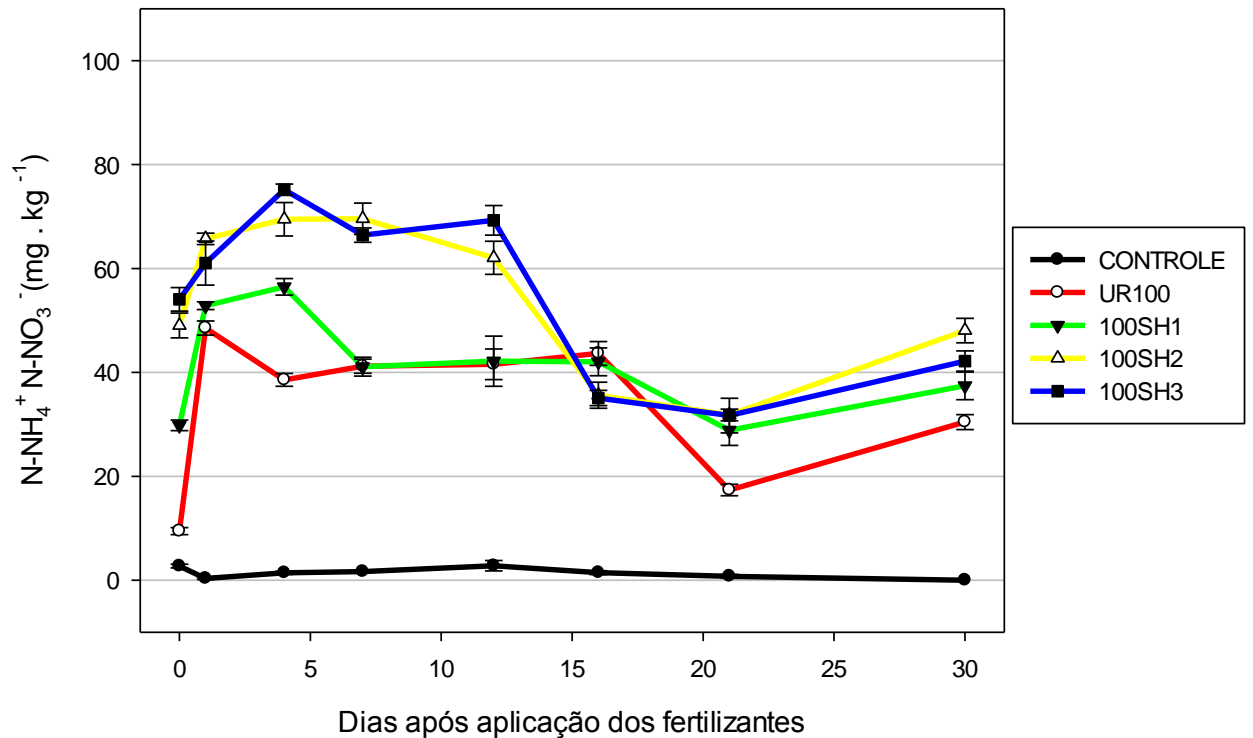


Figura 11 - Concentração de N-mineral total ( $N-NH_4^+ + N-NO_3^-$ ) nos tratamentos com  $100 \text{ mgdm}^{-3}$  de N-ureia. Barras de erro indicam o erro padrão da média

Tabela 6 - Teste de médias de Tukey a 5% da concentração de N-mineral total ( $N-NH_4^+ + N-NO_3^-$ ) dos tratamentos com  $100 \text{ mgdm}^{-3}$  de N-ureia

Tratamentos	Dias após a aplicação dos fertilizantes							
	0	1	4	7	12	16	21	30
Controle	D	D	D	C	C	B	C	D
UR100	C	C	C	B	B	A	B	C
100SH1	B	BC	B	B	B	A	A	BC
100SH2	A	A	A	A	A	A	A	A
100SH3	A	AB	A	A	A	A	A	AB

Os resultados obtidos discordam e, ao mesmo tempo, corroboram com o que foi observado por Donget al. (2006,2009). Por um lado os autores verificaram que houve redução na atividade da urease, resultando em um processo de formação de amônio mais lento (DONG et al., 2006); segundo os autores, isso ocorreu devido à ação de estabilização de enzimas extracelulares (NANNIPIERI et al., 1996), tais como a urease (DONG et al. 2006, 2009). No caso do presente trabalho o efeito foi inverso. Quando houve associação da ureia com a SH houve mais hidrólise e maiores concentrações de  $NH_4^+$  o que sugere que ao invés da estabilização da urease, houve estímulo da sua atividade, ou então, a SH utilizada contribuiu com a presença da enzima.

Os ácidos húmicos (AH) são compostos macromoleculares originados da degradação química e biológica de resíduos de plantas e animais além de células microbianas (HAYES; WILSON, 1997). Nos trabalhos de Donget al. (2006, 2009) a SH utilizada era proveniente do carvão mineral Lignito originado de resíduos de plantas e animal, em um alto grau de estabilização. No caso do presente trabalho foi utilizada como fonte de SH a turfa, que é um material intermediário ao carvão, quanto ao processo de estabilização, e também tem sua formação através da degradação de resíduos de plantas e animais. No entanto, é possível, devido ao menor tempo de estabilização, que a turfa apresente como um de seus componentes, a enzima urease, uma vez que a enzima extracelular pode ser constituinte de resíduos vegetais (REYNOLDS; WOLF; ARMBRUSTER, 1985). Nesse sentido, a diferença das origens das SHs, podem ter gerado resultados distintos na dinâmica de hidrólise e formação de amônio.

Por outro lado, no que se refere aos resultados de nitrificação, os dos trabalhos de Donget al. (2006, 2008), se assemelharam aos do presente estudo. O desenvolvimento populacional e atividade de bactérias nitrificadoras responsáveis pela transformação do N amoniacal em N nítrico, são estimulados com o aumento da concentração de N amoniacal no ambiente (STEHR et al., 1995). Tal mecanismo pode ser utilizado como justificativa quando a SH inibe a formação de  $\text{NH}_3$ , através da redução da atividade da urease, conferindo, assim, a possibilidade de redução da nitrificação. No caso do presente trabalho, com a ocorrência de maior concentração de amônio, quando a ureia esteve associada com a SH, tal justificativa não se aplica.

No entanto, apesar de a maior quantidade de amônio, como verificada nesse trabalho, é conhecido que os ácidos húmicos presentes nas SHs alteram o equilíbrio de protonação da amônia a amônio no sentido de síntese de  $\text{NH}_4^+$ , através do consumo de  $\text{OH}^-$  gerados pela doação de  $\text{H}^+$  dos ácidos húmicos. Somado a isso, o consumo de  $\text{OH}^-$  gera radicais orgânicos com carga negativa de alta afinidade pelo  $\text{NH}_4^+$  (GULLO, 2007). Nesse sentido, segundo Mackowiak et al. (2001), o AH atua na regulação da disponibilidade de  $\text{NH}_3$  devido a sua propriedade de adsorção. Dessa forma, apesar da maior hidrólise da ureia nos tratamentos com SHs, houve menor disponibilidade de  $\text{NH}_3$ , fazendo com que houvesse diminuição no potencial de nitrificação por meio da redução na quantidade/atividade de bactérias nitrificadoras, uma vez que elas necessitam de amônia para crescer em população e apresentarem

maior atividade (ENWALL et al., 2007). Para o caso do tratamento com adição apenas de ureia, a amônia ficou mais disponível e estimulou o desenvolvimento e a atividade de bactérias nitrificadoras, aumentando o processo de nitrificação.

Assim, como observado para a menor dose, a dose 200 mg dm<sup>-3</sup> de N-ureia também apresentou influência das SHs nas concentrações de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no substrato. De maneira similar ao verificado anteriormente, a dose 200 mg dm<sup>-3</sup> de N-ureia associada às SHs aumentaram a hidrólise e a formação de amônio, pelo menos até os 12 DAF (Figura 12, Tabela 7), quando ocorreu também a intensificação do processo de nitrificação (Figura 13).

Com o aumento da dose de N-ureia, de 100 para 200 mg dm<sup>-3</sup>, ficou ainda mais claro o efeito das substâncias húmicas na redução da nitrificação (Figura 13 e Tabela 8), uma vez que ocorreu maior distinção nas concentrações de N-nitrato da aplicação de ureia em relação às associações da fonte amídica com SHs.

Na dose 100 mg dm<sup>-3</sup> de N-ureia, as SHs atuaram na redução de perdas do N-ureia, uma vez que ao final dos 30 DAF mostraram maiores concentrações de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no substrato. No caso da dose 200 mg dm<sup>-3</sup> de N-ureia, ocorreu o inverso. Aos 30 DAF todos os tratamentos apresentavam mesma concentração de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, exceto o tratamento controle. No entanto, no tratamento em que foi aplicada somente a ureia, a concentração de N (amônio e nitrato), Figura 14 e Tabela 9, foi maior que quando associado às SHs. A diferença observada (Figura 14 e Tabela 9) é explicada pela maior nitrificação, ou seja, maior teor de nitrato observado na aplicação de apenas N-ureia (Figura 13 e Tabela 8).



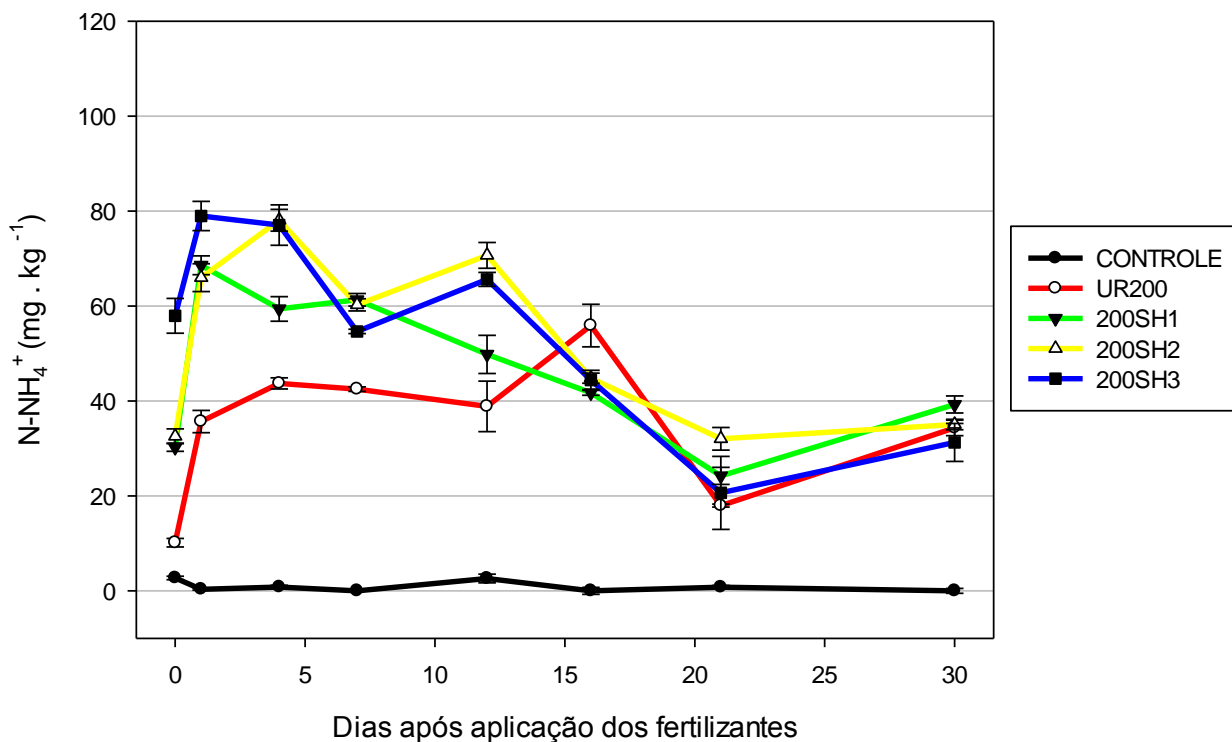


Figura 12 - Concentração de  $N-NH_4^+$  para os tratamentos com  $200 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  de N-ureia. Barras de erro indicam o erro padrão da média

Tabela 7 - Teste de médias de Tukey a 5% das concentrações de  $N-NH_4^+$  dos tratamentos com  $200 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  de N-ureia

Tratamentos	Dias após a aplicação dos fertilizantes							
	0	1	4	7	12	16	21	30
Controle	C	D	D	D	C	C	B	B
UR200	C	C	C	C	B	A	A	A
200SH1	B	B	B	A	B	B	A	A
200SH2	B	B	A	A	A	B	A	A
200SH3	A	A	A	B	A	B	A	A

É possível que com o aumento da dose de N-ureia, a capacidade das SHs na adsorção de amônio tenha sido prejudicada oferecendo maior possibilidade de ocorrência perdas.

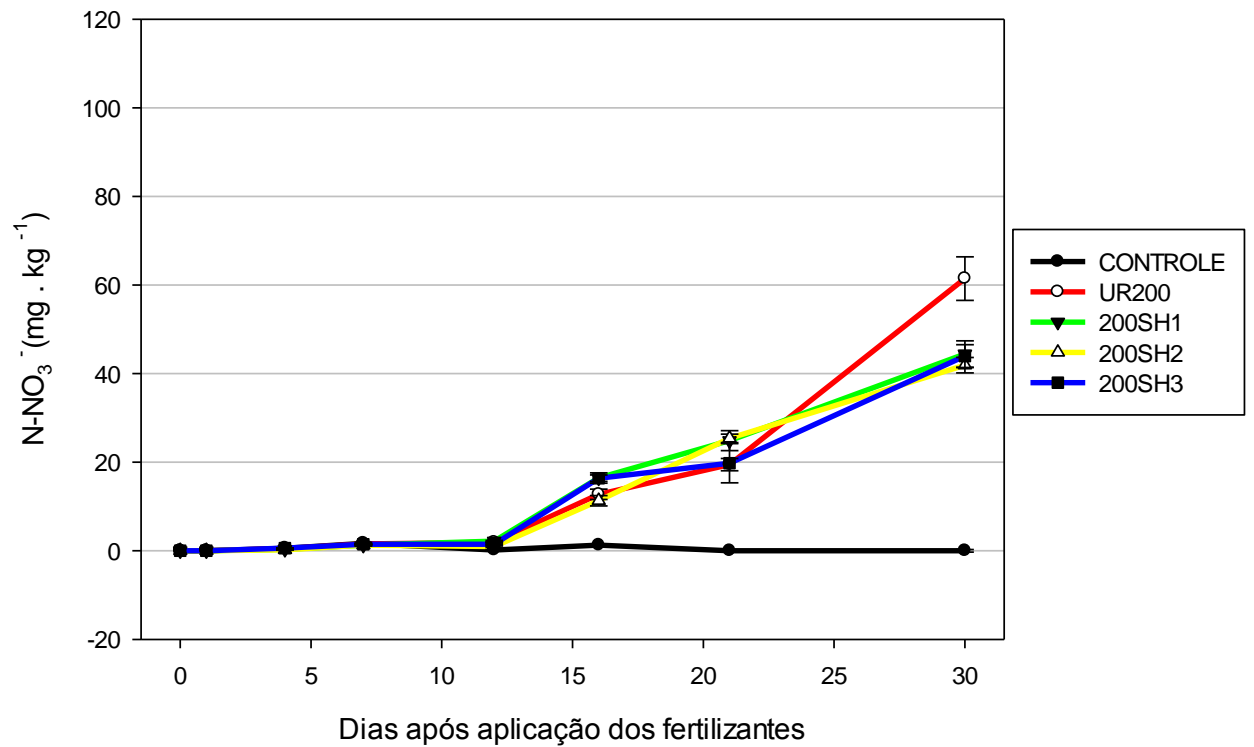


Figura 13 - Concentração de  $\text{N-NO}_3^-$  para os tratamentos com  $200 \text{ mgdm}^{-3}$  de N-ureia. Barras de erro indicam o erro padrão da média

Tabela 8 - Teste de médias de Tukey a 5% das concentrações de  $\text{N-NO}_3^-$  dos tratamentos com  $200 \text{ mgdm}^{-3}$  de N-ureia

Tratamentos	Dias após a aplicação dos fertilizantes							
	0	1	4	7	12	16	21	30
Controle	A	A	A	A	1	C	B	C
UR200	A	A	AB	A	AB	AB	A	A
200SH1	A	A	AB	A	A	A	A	B
200SH2	A	A	B	A	C	B	A	B
200SH3	A	A	A	A	BC	A	A	B

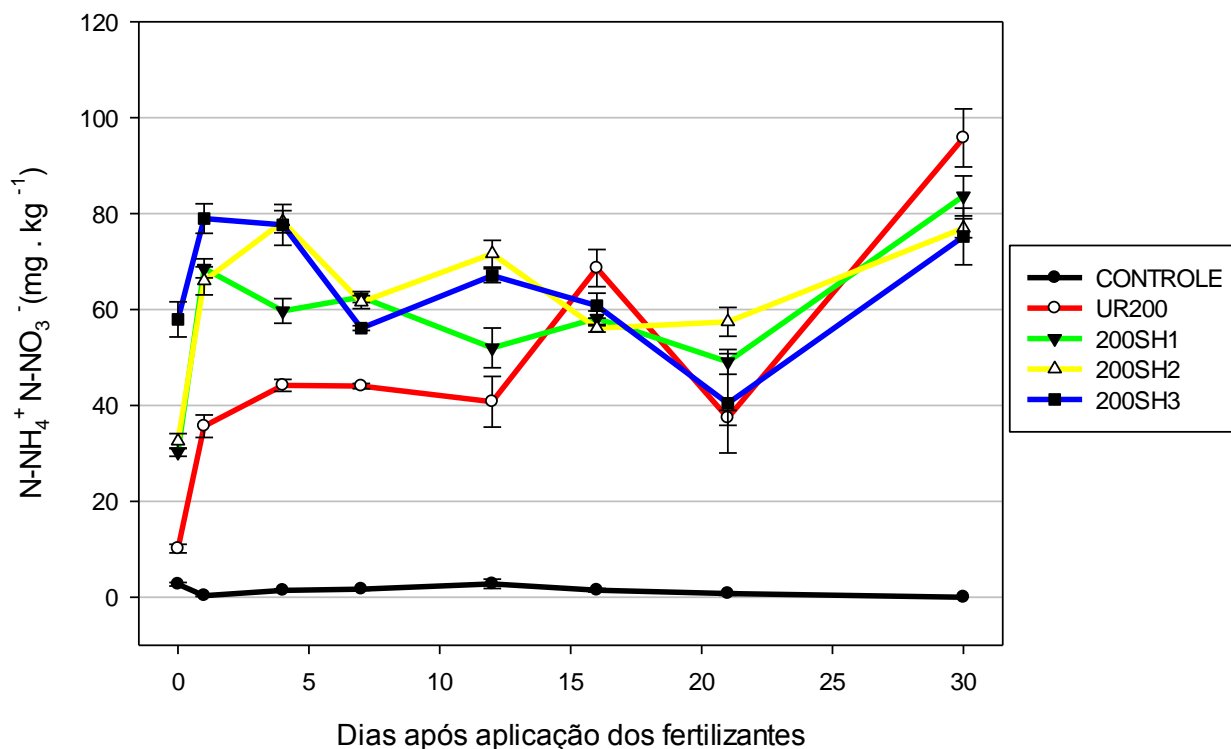


Figura 14 - Concentração de N-mineral total ( $\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-$ ) nos tratamentos com  $200 \text{ mgdm}^{-3}$  de N-ureia. Barras de erro indicam o erro padrão da média

Tabela 9 - Teste de médias de Tukey a 5% da concentração de N-mineral total ( $\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-$ ) dos tratamentos com  $200 \text{ mgdm}^{-3}$  de N-ureia

Tratamentos	Dias após a aplicação dos fertilizantes							
	0	1	4	7	12	16	21	30
Controle	C	D	D	D	D	C	B	C
UR200	C	C	C	C	C	A	A	A
200SH1	B	B	B	A	BC	B	A	AB
200SH2	B	B	A	A	A	B	A	B
200SH3	A	A	A	B	AB	AB	A	B

As transformações do N-ureia observadas nos distintos tratamentos do experimento de incubação do substrato com doses de SHs e N-ureia podem causar efeitos diretos no desenvolvimento de plantas crescendo no meio, uma vez que alteram a dinâmica do nitrogênio no sistema.

## 4.2 Experimento em casa-de-vegetação: sistema radicular de cana-de-açúcar

Verificou-se incrementos na produção de massa seca de raiz (MSR) de plantas de cana-de-açúcar (Figura 15a) que não receberam adubação nitrogenada com o aumento das doses de SH. Na dose 13,8 mg dm<sup>-3</sup> de C de SH o incremento na MSR foi de 45% seguido por 67% e 69% para as doses de 27,6 e 41,4 mg dm<sup>-3</sup> de C, respectivamente, quando comparada com as plantas do controle que não receberam nem SH nem N. Nas Figuras 16a, 16b, 17a e 17b estão exemplificadas fotos contrastantes do efeito das SHs no desenvolvimento radicular da cana-de-açúcar. É possível observar grande diferença no volume do sistema radicular com a presença de SHs na dose 41,4 mg dm<sup>-3</sup> de C (Figuras 16b e 17b) em relação à ausência de SHs (Figura 16a e 17a).

Quanto ao efeito apenas do nitrogênio sem aplicação de SH, houve incremento na MSR de 27% com a dose de 100 mg dm<sup>-3</sup> e decréscimo de 21% para a dose 200 mg dm<sup>-3</sup>, quando comparada com as plantas do controle. Em aplicações isoladas, os tratamentos que receberam apenas SH foram em média, consideradas todas as doses de SH, superiores em 26% no acúmulo de MSR quando comparado com a dose 100 mg dm<sup>-3</sup> de N-ureia (sem adição de SH), ou seja, a dose de N-ureia que melhor respondeu em produção de MSR.

A variável MSR apresentou efeitos de interação das SH e N-ureia. Apesar de alguns tratamentos com mistura de SH e N-ureia terem apresentado produtividades maiores que o controle, a interação entre os produtos trouxe efeitos negativos na MSR (Figura 15a). Na associação das doses de SH, 13,8; 27,6; e 41,4 mg dm<sup>-3</sup> de C, com a dose 100 mg dm<sup>-3</sup> de N-ureia, houve aumento na MSR em relação ao tratamento controle de 54, 60 e 44%, respectivamente. Entretanto, com o aumento da dose de N-ureia concomitante à elevação das doses de SH, a MSR reduziu-se, resultado do efeito antagônico observado no experimento.

O efeito antagônico da associação de SHs e N-ureia ocorreu pelo efeito na hidrólise da ureia e formação de amônio que as SHs propiciaram, aumentando, assim, o efeito fitotóxico do amônio. O efeito negativo do NH<sub>4</sub><sup>+</sup> sobre o crescimento tem sido atribuído à necessidade de utilização dos carboidratos produzidos prioritariamente para a rápida assimilação do amônio absorvido, com vistas a evitar sua acumulação e, conseqüente, problemas de toxicidade (LEWIS; LEIDI; LIPS,

1989), problemas esses relacionados a alterações no pH celular e desbalanços iônico e hormonal, entre outros (BRITTO; KRONZUCKER, 2002).

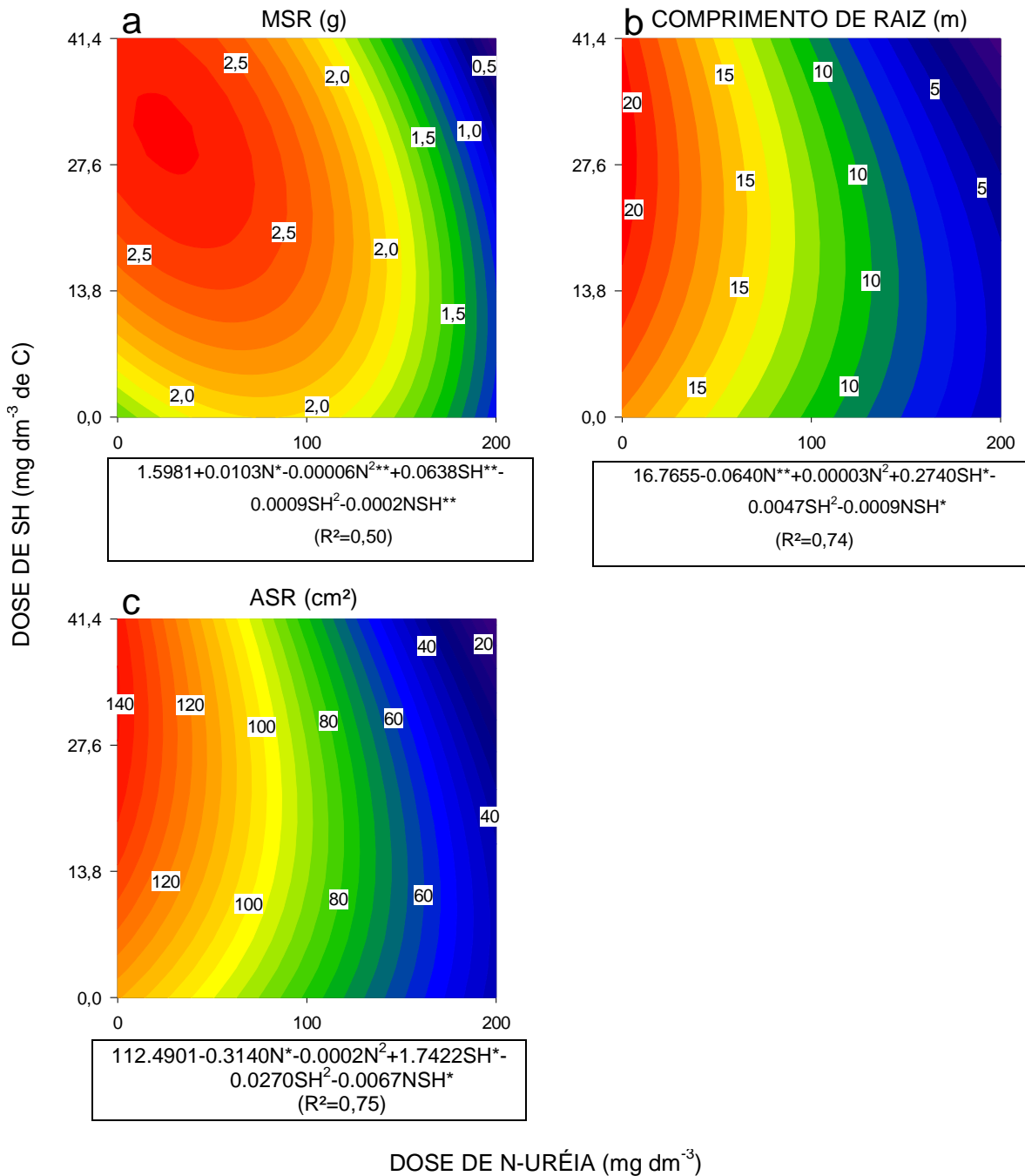


Figura 15 - Interação das doses de N-ureia e Substâncias húmicas nos parâmetros avaliados do sistema radicular das plantas de cana-de-açúcar. Massa seca da raiz em gramas – MSR (a), Comprimento da raiz em metros – CR (b) e Área superficial de raízes em  $\text{cm}^2$  – ASR (c)



Figura 16 - Sistema radicular da cana-de-açúcar submetida (b) ou não (a) à aplicação de SHs. Em (b) a dose de SH utilizada foi de 41,4 mg dm<sup>-3</sup> de C



Figura 17 – Sistema radicular da cana-de-açúcar submetida (b) ou não (a) à aplicação de SHs. Em (b) a dose de SH utilizada foi de 41,4 mg dm<sup>-3</sup> de C

Em relação ao comprimento radicular (CR), Figura15b, e as áreas superficiais radiculares (ASR), Figura15c, ambas variáveis de respostas mostraram ser altamente correlatas, apresentando R de Pearson equivalente a 0,97. Por outro lado essas variáveis mostraram comportamento de resposta diferentes da MSR. A diferença ocorreu, principalmente, devido às alterações nas características morfológicas do sistema radicular nos tratamentos com ureia. À medida que se aumentou a dose de N-ureia ocorreu redução da quantidade de raízes finas (0 a 0,5mm), Figura18a, e aumento de raízes de maior diâmetro (0,5 a 2mm), Figura18b, com conseqüente aumento no diâmetro médio das raízes, Figura18c e redução do volume radicular, Figura18d.

O suprimento de nutrientes no substrato, principalmente o de nitrogênio, altera a morfologia, o crescimento e a distribuição das raízes (MARSCHNER, 1995). Em experimento de vasos Bologna-Campbell et al. (2013) observaram aumento do sistema radicular estimulado pela adubação nitrogenada em cana planta. Nesse experimento houve aumento de 37% em relação à dose mais alta,  $10 \text{ mg dm}^{-3}$  de N, para o tratamento que não recebeu nitrogênio. Trivelinet al.(2002), em experimento em vasos com solo arenoso verificou efeito linear das doses de N-ureia, sendo que para o controle e a máxima dose de N ( $90 \text{ kg ha}^{-1}$ )houve incremento de 72% na produção da parte subterrânea (raízes e rizomas). Apesar desses incrementos, nenhum dos trabalhos avaliou as características morfológicas do sistema radicular.

Para este experimento foi observado um contraste na dinâmica do desenvolvimento radicular enquanto a planta se encontrava com uma fertilidade adequada e quando ocorreu algum tipo de deficiência no substrato. No caso da deficiência, a planta não foi capaz de aumentar a produção de MSR, porém, nesse caso, destinou o crescimento do sistema radicular no sentido da produção de raízes finas, incrementando assim a ASR e o CR. No caso da presença do N-ureia, houve aumento da MSR, porém, não ocorreu o mesmo com a ASR e o CR. Comparando-se os tratamentos onde não foram aplicados SH e N-ureia com o tratamento que recebeu  $100 \text{ mg dm}^{-3}$  de N-ureia, houve aumento de 27% na MSR na presença de N, e redução de 30% na ASR e 36% no CR. Esses resultados indicaram que a planta desprovida de N necessitou desenvolver maior ASR e CR visando explorar maior volume do substrato.



Segundo Smith et al. (2005) a cana-de-açúcar inicia o desenvolvimento de raízes do anel radicular, circundando o local da gema vegetativa. Essas raízes são finas e necessárias para o estabelecimento inicial da cultura. Uma vez estabelecidas, essas raízes dão suporte ao desenvolvimento inicial da parte aérea da cana. À medida que os perfilhos crescem, surgem então as raízes de perfilho, que são inseridas na base do perfilho. Essas raízes são mais grossas e tem como principal função suprir a cultura com água.

Neste experimento foi possível verificar tal dinâmica de desenvolvimento radicular, uma vez que foi feita a estratificação dos diâmetros radiculares, através do software Winrhizo. As raízes de diâmetro mais fino (0 a 0,5mm) são referentes às raízes do anel radicular e as de diâmetro mais grosso (0,5 a 2 mm) referem-se às raízes de perfilhos. Tal distinção entre raízes do perfilho e do colmo foi identificada na análise de imagens geradas no "software". Nos tratamentos em que a fertilidade do solo estava completa, ou seja, com a presença do N-ureia, considerando apenas a dose 100 mg dm<sup>-3</sup> de N-ureia, a cana-de-açúcar não precisou gerar massa de raízes muito significativa do anel radicular, uma vez que estava inserida em um ambiente com todos os nutrientes, o que estimulou a produção da parte aérea e dos perfilhos. Com o estímulo da produção da parte aérea, houve também maior crescimento das raízes provenientes dos perfilhos. No caso da depleção do N do sistema, ocorreu o inverso. Houve preferência da cultura para a produção de raízes finas (do anel radicular) já que era necessário explorar maior volume de substrato, visando obtenção de nutrientes, o que levou ao aumento da ASR e CR.

Para a dose de 200 mg dm<sup>-3</sup> de N-ureia, houve aumento no diâmetro médio das raízes (Figura18c) e houve grande redução da MSR e também da CR e ASR (Figuras15a, 15b e 15c), se comparado com o controle (0 de N-ureia). Tal efeito evidenciou que para essa dose, o N apresentou toxidez, reduzindo o crescimento das plantas. Sendo assim, o provável motivo para o aumento do diâmetro das raízes foi o engrossamento e encurtamento do sistema radicular causado pela toxidez por amônio, efeito esse verificado por Megda (2013) e Britto e Kronzucker (2002). Goyal, Lorenz e Huffaker (1982); Szczerba et al. (2008), citados por Megda (2013) atribuíram esse efeito à capacidade do sistema radicular em reduzir o efeito tóxico do N-amônio na parte aérea, acumulando essa forma de Nitrogênio no vacúolo das células da raiz com conseqüente engrossamento do sistema radicular.

Os tratamentos com apenas SH influenciaram de forma positiva tanto o CR quanto o ASR, além de também estimular a produção de MSR. Os aumentos observados no CR das doses 13,8; 27,6; e 41,4 mg dm<sup>-3</sup> de C em relação a dose zero foram, respectivamente, de 17%, 24% e 20% e para a ASR de 17%, 24% e 23%.

No experimento foi constatado estímulo das substâncias húmicas utilizadas no aumento da MSR e também do CR e ASR. Tal estímulo também foi observado por Marques Jr et al. (2008), que verificou aumentos em raízes de minitoletes de cana-de-açúcar na ordem de 120% na MSR, 118% na CR e valores próximos a 120% na ASR, por meio do tratamento dos minitoletes com ácido húmico extraído de vermicomposto.

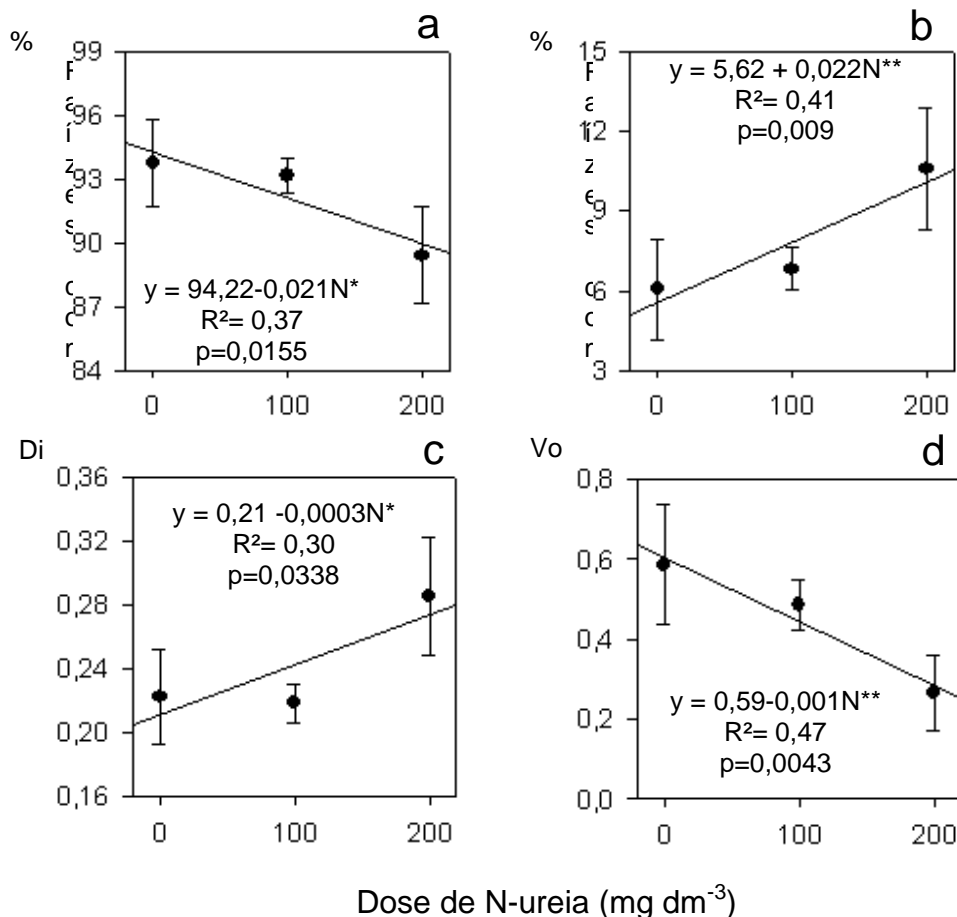


Figura 18 - Regressões das variáveis que não apresentaram interação de N com SH. %Raízes com diâmetro entre 0 e 0,5mm - (a); %Raízes com diâmetro entre 0,5 e 2,0mm - (b); Diâmetro médio da raiz (mm) - (c); Volume radicular (cm<sup>3</sup>) (d)

O estímulo ao sistema radicular gerado pelas SHs, que pode ser observado nesse experimento, já foi reportado em diversos artigos de revisão (NARDI et al., 2002; TREVISAN et al., 2010; ZANDONADI et al., 2013) e também em capítulos livros nacionais e estrangeiros (CANELLAS et al., 2005; NARDI et al., 2009). Segundo Zandonadi et al. (2013), a ação das SHs nas plantas está relacionada tanto aos fito hormônios liberados de sua estrutura na rizosfera durante a interação com as plantas, as quais podem liberar ácidos orgânicos na presença de SHs, quanto às moléculas parecidas com fito hormônios diretamente presentes em sua estrutura. Em todos os casos, a atuação das SHs nas bombas de prótons é de grande importância no crescimento radicular e morfologia, além de estimular a absorção de nutrientes.

Canellaset al. (2002) verificaram que as SHs ativam as bombas de prótons  $H^+$ ATPases presentes na membrana plasmática das células radiculares, ocorrendo assim, incremento da extrusão de  $H^+$  no apoplasto. A extrusão de  $H^+$  promove a redução do pH e, como resultado, ocorre a ativação das expansinas, enzimas que atuam no rompimento das pontes de hidrogênio da parede celular levando a um afrouxamento da mesma (CANELLAS et al., 2012). Tal afrouxamento associado com a pressão de turgescência interna leva ao alongamento das células, processo esse, irreversível, denominado de crescimento ácido, típico das auxinas (RAYLE; CLELAND, 1992).

Esses mecanismos supracitados explicam os estímulos no desenvolvimento radicular obtidos nesse experimento e se assemelham com diversos outros trabalhos que obtiveram resultados positivos com a utilização de SH no desenvolvimento radicular de mono e dicotiledôneas (PICOLLO et al., 1993; ADANI et al., 1998; MUSCOLO et al., 1999; NARDI et al., 2000; CANELLAS et al., 2002, 2013; MARQUES JR. et al., 2008; MORA et al., 2010; ARANCON et al., 2012).

Canellaset al. (2012) avaliando ácidos húmicos de diversas fontes de substâncias húmicas, definiu quais os parâmetros químicos referentes à análise por ressonância magnética nuclear (RMN  $C^{13}$  CP/MAS –TOSS) que geram maior estímulo na produção de raízes. Os parâmetros que mais influenciaram positivamente foram o índice de hidrofobicidade, que é a relação da soma das regiões hidrofóbicas (0-40 e 110-160 ppm), pela soma das regiões hidrofílicas e também a contribuição da região química correspondente 40-110 ppm. O parâmetro

índice de hidrofobicidade está relacionado à capacidade do AH em proteger e preservar fragmentos moleculares bioativos, tais como as auxinas, presentes em maiores quantidades na região química 40-110 ppm, daí a influência dessa região no desenvolvimento do sistema radicular bem como a influência do índice de hidrofobicidade.

O AH proveniente da turfa usado neste experimento foi também submetido à análise de ressonância magnética nuclear (RMN  $C^{13}$  CP/MAS –TOSS). Os valores das regiões químicas constam na Tabela10, os quais foram obtidos com a integração de cada região contida no espectro (Figura19). O índice de hidrofobicidade obtido foi próximo de 0,7, o que pode ser considerado relativamente baixo se comparado com a média equivalente a um obtida no trabalho de Canellaset al. (2012). No entanto no que diz respeito à região química correspondente ao 40-110 ppm, o AH de turfa apresentou valor correspondente a 53,12 (Tabela10), o que foi bem a cima da média obtida por Canellas et al. (2012), de 39,9, e ainda, ficou próximo ao valor máximo de 56,2 verificado pelos autores.

Nesse sentido os efeitos observados nas alterações do sistema radicular da cana-de-açúcar podem ser reflexo da característica bioestimulante verificada na análise química do AH, composto este presente nas substâncias húmicas utilizadas no experimento.

Tabela 10 - Resultados das porcentagens dada pela integração dos espectros de RMN  $C^{13}$  CP/MAS-TOSS em cada região química

% Relativa para cada região química (ppm) – Análise RMN $C^{13}$ CP/MAS -TOSS				
Amostra	0-40 (HB)	40-110 (HI)	110-160 (HB)	160-200 (HI)
Ácido Húmico de Turfa	12,45	53,12	49,10	37,14

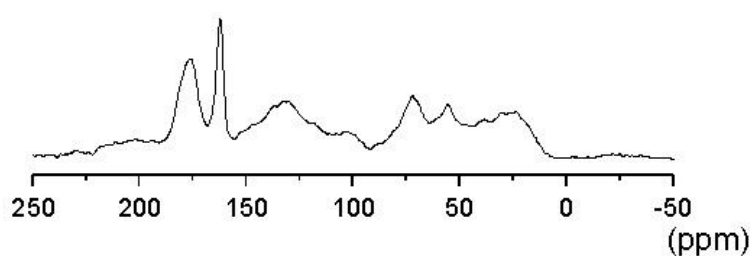


Figura19 - Espectro de RMN de  $C^{13}$  CP/MAS-TOSS da amostra AH proveniente de turfa

De maneira geral, tanto as substâncias húmicas quanto o N-ureia aumentaram a MSR, sendo que as SHs estimularam também o incremento das características morfológicas de CR e ASR, enquanto que o N-ureia aumentou a quantidade de raízes grossas, ou de perfilho. A interação entre os dois produtos foi prejudicial ao desenvolvimento radicular da cana-de-açúcar uma vez que a mistura aumentou o teor de amônio no substrato causando maior fitotoxidez na cultura. Foi possível observar também que o suprimento de nutrientes altera a morfologia radicular no desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar principalmente no que diz respeito às raízes de colmo e de perfilho.

#### **4.3 Experimento em casa-de-vegetação: Parte aérea de cana-de-açúcar**

De forma similar ao ocorrido na massa seca do sistema radicular (MSR), houve estímulo na produção de massa seca da parte aérea (MSPA) através da aplicação de SHs (Figura20a e Tabela11). Em relação ao controle, sem a aplicação de N-ureia nem SHs, houve aumento de 47, 84 e 113% quando foram aplicadas SHs nas doses 13,8; 27,6; e 41,4 mg dm<sup>-3</sup> de C, respectivamente.

Os incrementos obtidos na MSPA foram reflexos dos outros parâmetros avaliados tais como: altura (Figura20b e Tabela11), diâmetro de colmos (Figura20c e Tabela11), número de folhas (Figura20d e Tabela11) e área foliar (Figura20e e Tabela11). Relacionando tais parâmetros com a MSPA são obtidas as seguintes correlações de Pearson: 0,89; 0,92; 0,67; e 0,90, respectivamente. Nesse sentido, exceto o número de folhas, todos os outros parâmetros são bem correlacionados com a MSPA.

Portanto uma vez que a SHs aumentaram a MSPA, também mostraram efeitos positivos no incremento de outros parâmetros. Respectivamente para as doses de SHs de 13,8; 27,6; e 41,4 mg dm<sup>-3</sup> de C, houve incrementos de 16, 33 e 50% para a altura, 15, 25 e 30% para o diâmetro de colmos, 18, 31 e 39% para o número de folhas e 47, 82 e 104% para a área foliar, em relação ao tratamento controle, onde não houve aplicação de N-ureia e SHs.

Da mesma forma que a interação das SHs com N-ureia foi prejudicial para o desenvolvimento do sistema radicular, ocorreu o mesmo com a parte aérea. Para todos os parâmetros avaliados da parte aérea, houve efeito de interação antagônico das substâncias húmicas com o nitrogênio, como podem ser observados nos

polinômios gerados (Tabela11), em que o fator que multiplica a interação “NSH” é sempre negativo. Tais resultados negativos podem também estar relacionados à maior concentração de amônio no substrato das plantas que receberam a mistura de SHs com N-ureia.

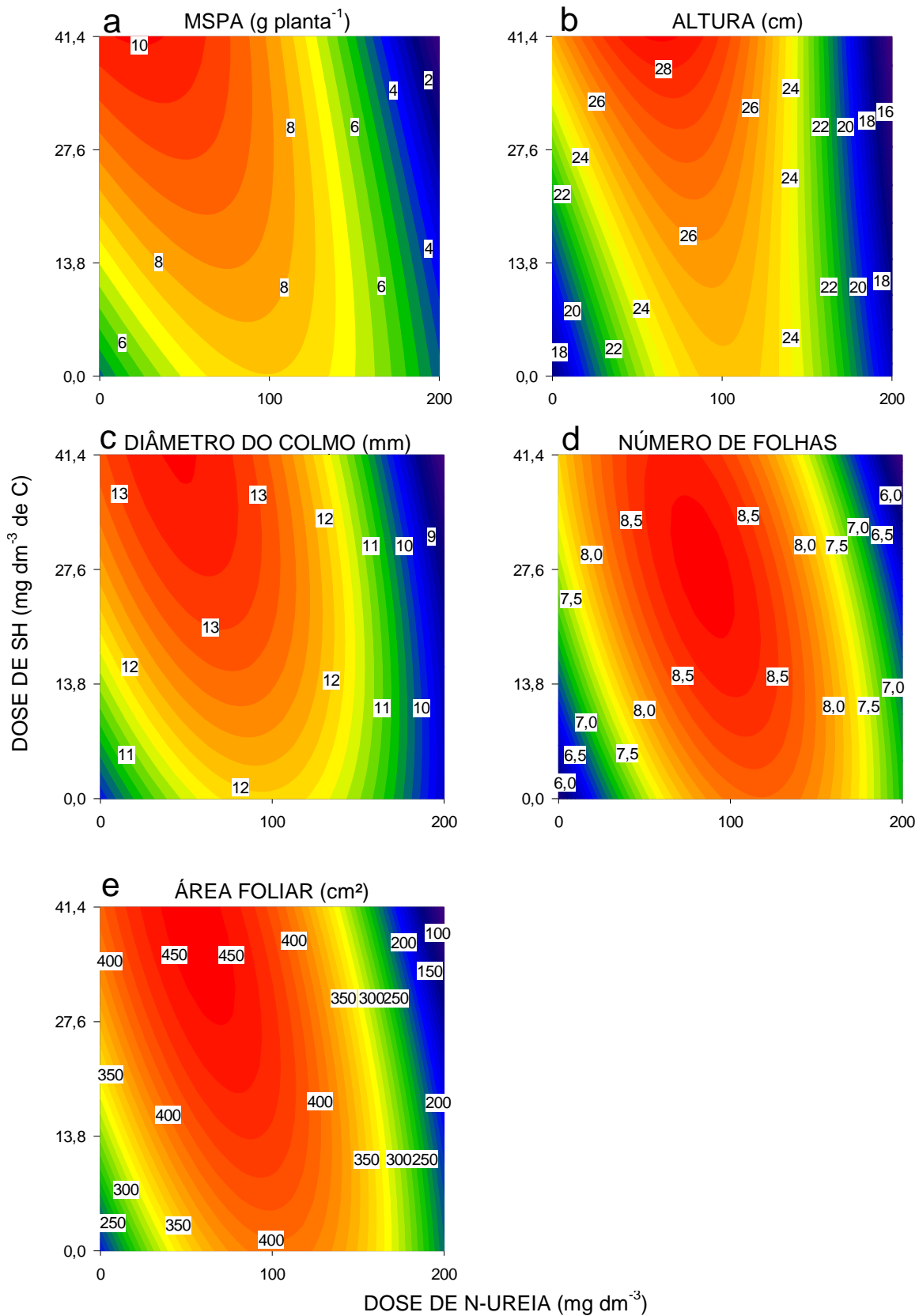


Figura 20 – Efeitos da interação das doses de N-ureia e substâncias húmicas nos parâmetros avaliados da parte aérea das plantas de cana-de-açúcar. Massa seca da parte aérea – MSPA (a), altura das plantas (b), diâmetro do colmo (c), número de folhas (d) e área foliar (e)

Tabela 11 - Equações e R<sup>2</sup> dos polinômios dos parâmetros avaliados na parte aérea da cana-de-açúcar

Parâmetro	Equação do Polinômio	R <sup>2</sup>
MSPA	$4,6432 + 0,0594N^{***} - 0,0003N^{2***} + 0,1725SH^* - 0,0011SH^2 - 0,0011NSH^{***}$	0,64
ALTURA	$16,8291 + 0,1571N^{***} - 0,0007N^{2***} + 0,1956SH^* + 0,0002SH^2 - 0,0014NSH^{**}$	0,57
DIÂMETRO DO COLMO	$9,8210 + 0,0447N^{***} - 0,0002N^{2***} + 0,1205SH^* - 0,0012SH^2 - 0,000559NSH^{**}$	0,57
NÚMERO DE FOLHAS	$5,6799 + 0,0442N^{***} - 0,0001N^{2***} + 0,0864SH^* - 0,0008SH^2 - 0,0004NSH^{**}$	0,43
ÁREA FOLIAR	$199,4461 + 3,7748N^{***} - 0,0180N^{2***} + 7,7880SH^* - 0,0676SH^2 - 0,0455NSHN^{**}$	0,49

Marques Jr. et al. (2008) testando SHs derivadas de vermicomposto no desenvolvimento inicial de mini toletes de cana-de-açúcar, verificou incrementos de 125% na massa seca da parte aérea nos tratamentos que receberam as SHs. Esse resultado se aproxima ao obtido com a aplicação máxima de SHs (41,4 mg dm<sup>-3</sup> de C) derivada de turfa utilizada neste trabalho, onde houve incremento de 113% na MSPA. Os efeitos positivos das SHs no crescimento da parte aérea de plantas estão relacionados principalmente com o efeito tipicamente hormonal gerado por essas substâncias, o qual influencia diretamente na respiração celular, fotossíntese, fosforilação oxidativa, síntese proteica, divisão celular e várias outras reações enzimáticas (VAUGHAN; MALCOLM, 1985; CHEN; AVIAD, 1990; MUSCOLO et al., 1993, 1996, 1999; MORA et al., 2010).

De acordo com Mora et al. (2010), o efeito das substâncias húmicas relacionadas ao desenvolvimento da parte aérea está diretamente ligada à ativação das H<sup>+</sup>-ATPases e ao aumento da absorção de nitrato pelas raízes. As SHs são capazes de ativar as bombas de prótons H<sup>+</sup>-ATPases no sistema radicular bem como aumentar a absorção de nitrato nas raízes (PINTON et al., 1999; NARDI et al., 2002; QUAGGIOTTI et al., 2004). Estudos mostram que o nitrato atua como sinalizador hormonal promovendo o crescimento da parte aérea (SAKAKIBARA, 2006; SAKAKIBARA et al., 2006; RUBIO et al., 2009; GARNICA et al., 2009). Esses estudos mostram efeitos diretos do nitrato na alteração da distribuição hormonal entre as raízes e parte aérea de, por exemplo, as citocininas (SAKAKIBARA, 2006). Nesse sentido é possível que a ação das SHs sobre o crescimento da parte aérea



da planta seja devido à mudança na distribuição do nitrato entre a parte aérea e a raiz. Essa mudança realizada pela maior atividade das H<sup>+</sup>-ATPases das raízes, estimulada pelas SHs, altera a distribuição de citocininas, as quais ficam mais acumuladas na parte aérea da planta incrementando o desenvolvimento (MORA et al., 2010).

Quanto ao efeito da aplicação das doses de N-ureia na produção de MSPA (Figura20a), para a dose 100 mg dm<sup>3</sup> houve incremento de 63% e para a dose 200mg dm<sup>3</sup> redução de 3% em relação ao tratamento controle. Na dose 100 mg dm<sup>3</sup> de N-ureia, dose que melhor respondeu aos parâmetro avaliados da parte aérea, aumentou em 52% a altura de plantas (Figura20b), 25% o diâmetro das plantas (Figura20c), 60% o número de folhas (Figura20d) e 100% da área foliar (Figura20e). A área foliar foi o parâmetro que mais respondeu positivamente ao nitrogênio. Segundo Chapman eLemaire (1993), o aumento da disponibilidade do nitrogênio no sistema possibilita maior crescimento e alongação das células foliares gerando maior área foliar e perfilhamento e atua diretamente na capacidade fotossintética uma vez que é componente essencial nas proteínas envolvidas na fotossíntese, bem como da clorofila (SEEMANN et al., 1987; LUO et al., 2013).

Os incrementos observados na MSPA estimulados pelas doses de SHs foram mais expressivos que os obtidos na massa do sistema radicular. O maior aumento da MSPA em relação à MSR através do aumento da dose de SHs causou efeito direto na redução da relação raiz: parte aérea das plantas (Figura21). Isso indica que o aumento da dose de SH fez com que as plantas aumentassem a produção da parte aérea, porém os incrementos no sistema radicular não foram proporcionais.

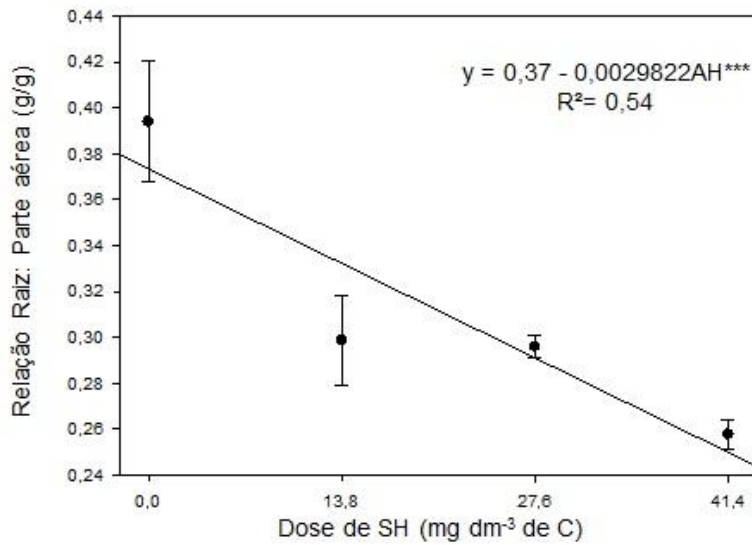


Figura 21 - Relação raiz: parte aérea (g/g) referente à regressão das doses de SHs (sem aplicação de N-ureia). Barras de erros representam o erro padrão da média

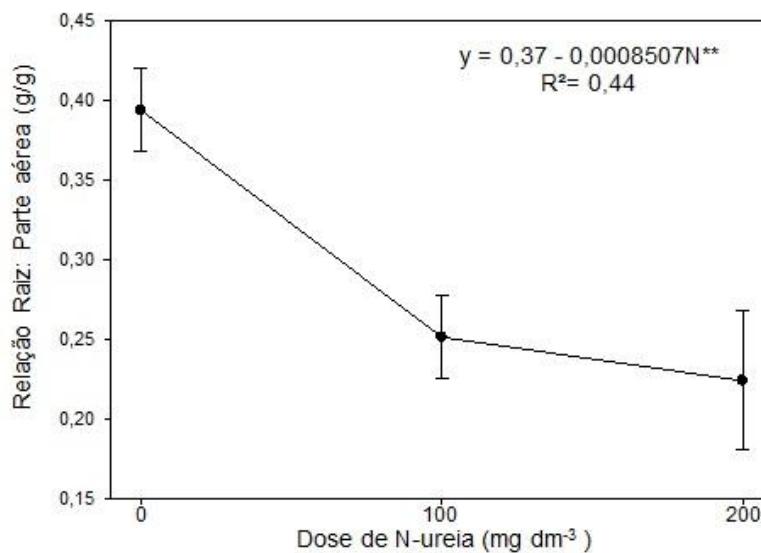


Figura 22 - Relação raiz: parte aérea (g/g) referente à regressão das doses de N-ureia (sem associação com SHs). Barras de erros representam o erro padrão da média

Assim como observado na redução da relação raiz: parte aérea com a aplicação de SHs (Figura 21), o nitrogênio também fez com que houvesse redução dessa variável (Figura 22).

Sabem-se que as plantas distribuem maior parte da biomassa para a parte aérea, em relação ao sistema radicular, quando estão submetidas a ambientes ricos em nutrientes (TILMAN, 1988; GEDROC et al., 1996) e desenvolvem mais o sistema radicular em ambientes menos férteis (CRICK; GRIME, 1987). Portanto nos tratamentos que receberam tanto SH quanto N-ureia, ou seja, um ambiente mais rico

em fertilidade houve preferência da planta optar por desenvolver, proporcionalmente, mais a parte aérea do que o sistema radicular. Por outro lado também foi verificado que as plantas do tratamento controle, ou seja, que se desenvolveram num ambiente mais restritivo em fertilidade apresentaram maior relação raiz: parte aérea (Figura 21 e 22), indicando que as plantas destinaram o crescimento de biomassa no sistema radicular, comprometendo o desenvolvimento da parte aérea.

Em suma, as aplicações isoladas de N-ureia e SHs foram benéficas ao desenvolvimento da parte aérea da cana-de-açúcar, aumentando todos os parâmetros avaliados. Tanto o N-ureia quanto as SHs, aumentaram o diâmetro do colmo, o número de folhas, a altura das culturas e ainda a área foliar, conferindo a planta maior capacidade fotossintética.

#### **4.4 Teor e Acúmulo de Nitrogênio**

Na Figura 23 é representado o acúmulo de nitrogênio na planta de cana-de-açúcar. As SHs, aplicadas isoladamente, não mostraram efeito significativo na alteração do N acumulado na parte aérea. No caso da aplicação do N-ureia, a dose 100 mg dm<sup>-3</sup> aumentou em 316% o acúmulo de nitrogênio na parte aérea da planta em relação ao controle (Figura 23). A maior dose de nitrogênio, se comparada com a aplicação da dose 100 mg dm<sup>-3</sup> de N-ureia, reduziu o acúmulo de N na planta, uma vez que a produção de biomassa também foi menor. No entanto a maior dose de N-ureia aumentou o teor de N na planta (Figura 24), indicando que houve maior concentração de nitrogênio na planta devido a menor biomassa produzida. O aumento do teor está relacionado com o incremento da dose de N o que, conseqüentemente, elevou as formas minerais de N no solo (item 4.1).

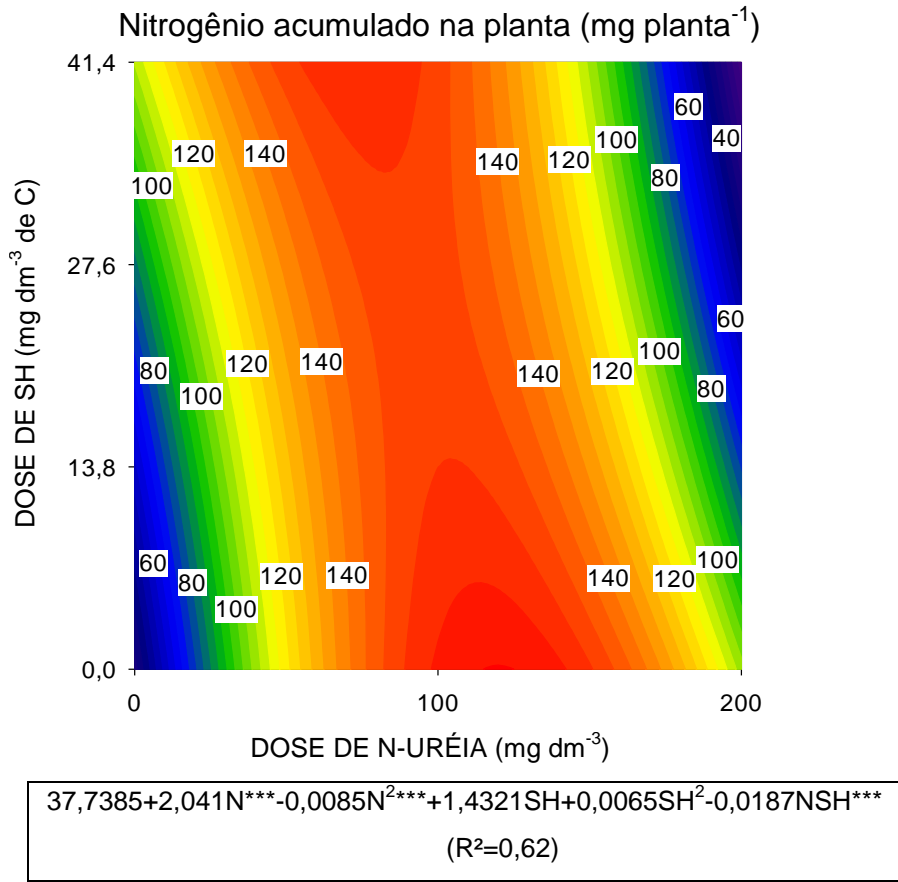


Figura23 - Nitrogênio acumulado na planta ( $\text{mg planta}^{-1}$ )

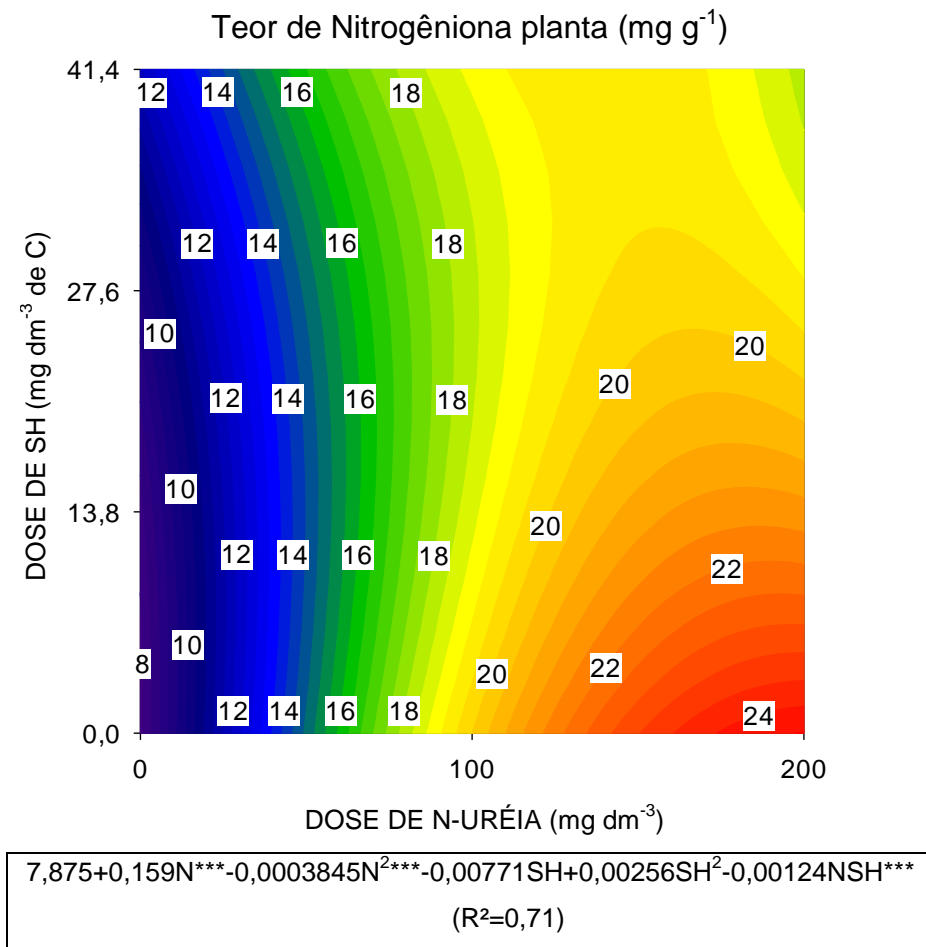


Figura 24 - Teor de Nitrogênio na planta ( $\text{mg g}^{-1}$ )

Contrariando o observado com as aplicações de N-ureia, em que o aumento da dose aumentou o teor de N na planta, a associação das doses de N com as aplicações das doses de SHs, reduziu o teor de N na planta (Figura 24), resultado de efeito antagônico dessa associação. Para exemplificar o efeito, foi visto que, por exemplo, as associações das doses de SHs à aplicação da dose  $100 \text{ mg dm}^{-3}$  de N-ureia reduziu, em média, valor próximo a 10% do teor de N.

Além do teor, a associação do N-ureia com as SHs reduziu o acúmulo de Nitrogênio nas plantas (Figura 23). Estes resultados são contraditórios ao que foi observado com os efeitos das aplicações isoladas de N-ureia, pois, assim como o aumento das doses de N-ureia, a associação de N-ureia com SHs também aumentou os teores de N mineral no solo (item 4.1). No entanto enquanto a elevação dos teores de N mineral do solo, causado pela elevação das aplicações isoladas de N-ureia levou ao aumento do teor de N na planta, o aumento da

concentração de N mineral do solo consequente da associação de N-ureia com SHs, reduziu o teor de N na planta.

A redução do acúmulo bem como do teor de nitrogênio na planta nas associações de N-ureia na dose  $100 \text{ mg dm}^{-3}$  com as doses de SHs é reflexo do efeito bioestimulante observado nos incrementos das biomassas da parte aérea e sistema radicular da cana-de-açúcar. Houve, portanto, um efeito de diluição do Nitrogênio, uma vez que a planta cresceu mais. De acordo com Jarrell e Beverly (1981), quando um nutriente que está limitando o crescimento da planta é adicionado na nutrição da mesma, ele estimula o crescimento vegetal e consequentemente dilui a concentração dos outros nutrientes contidos na planta. No caso deste estudo não foi um nutriente que estimulou o crescimento da planta, mas sim o efeito estimulante das SHs, amplamente reportado em estudos (NARDI et al., 2009; TREVISAN et al., 2013) e tal efeito fez com que o teor de nitrogênio nas plantas diminuíssem, assim como o acúmulo.

Uma das hipóteses desse trabalho era que a associação de substâncias húmicas com o nitrogênio proveniente da ureia aumentasse o acúmulo, bem como, os teores de Nitrogênio na planta. Tal hipótese foi fundamentada na capacidade das SHs em ativação de bombas de prótons na raiz, importante via de absorção de nutrientes, tais como nitrato e amônio (CANELLAS et al., 2012), bem como no estímulo propiciado pelas SHs na absorção de nitrato pelas raízes e ativação de transportadores de nitrato nas raízes e parte aérea (QUAGIOTTI et al., 2004). No caso deste experimento não foi possível verificar se a hipótese é válida ou não uma vez que as doses de nitrogênio utilizadas foram altas e não restringiram a absorção de N e nem o crescimento da planta, a não ser nos casos de toxidez. Nesse sentido todas as plantas foram eficientes na absorção de nitrogênio, devido à alta fertilidade decorrente da adubação utilizada e também por se tratar de um sistema fechado onde as raízes ocuparam grande volume do vaso, acessando com maior eficiência os nutrientes, assim como também relatou Ferreira (2012).



## 5 CONCLUSÕES

1-As substâncias húmicas extraídas de turfa favoreceram a hidrólise da ureia, bem como, reduziram a nitrificação. As substâncias húmicas mantiveram o N-mineral, principalmente, na forma amoniacal.

2-As substâncias húmicas extraídas de turfa atuaram de forma positiva no crescimento do sistema radicular e na parte aérea da cana-de-açúcar.

3-A adubação nitrogenada com N-ureia teve efeitos positivos no crescimento da planta de cana-de-açúcar em menor dose (dose  $100 \text{ mg dm}^{-3}$ ), porém em dose maior ( $200 \text{ mg dm}^{-3}$ ) o efeito foi negativo.

4-Ocorre diminuição da relação raiz: parte aérea com aplicações isoladas de N-ureia e substâncias húmicas extraídas de turfa.

5- A associação de substâncias húmicas extraídas de turfa com N-ureia, dependendo da concentração de N-ureia, não resulta em efeito positivo no crescimento da planta de cana-de-açúcar. A mistura dos produtos resulta em aumento na hidrólise da ureia, e dependendo da dose de N, pode causar toxidez às plantas.





## REFERÊNCIAS

- ARANCON, N.; PANT, A.; RADOVICH, T.; HUE, N.; POTTER, J. Seed germination and seedling growth of tomato and lettuce as affected by vermicompost water extracts (Teas). **HortScience**, Alexandria, v. 47, n. 12, p. 1722-1728, 2012.
- ASMAN, W.A.H.; SUTTON, M.; SCHJORRING, J.A.N. Ammonia: emission, atmospheric transport and deposition. **New phytologist**, Cambridge, v. 139, n. 1, p. 27-48, 1998.
- AZEREDO, D.D.; BOLSANELLO, J.; WEBER, H.; VIEIRA, J. Nitrogênio em cana-planta, doses e fracionamento. **STAB. Açúcar, Álcool & Subprodutos**, Piracicaba, v. 4, n. 5, p. 26-32, 1986.
- 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), Cd (II). **Química Nova**, São Paulo, v. 17, n. 5, p. 376-380, 1994.
- BOLOGNA CAMPBELL, I.; BOLOGNA-CAMPBELL, I.; VITTI, A.C.; FARONI, C.E.; FARONI, C.E. Impact of nitrogen and sulphur fertilisers on yield and quality of sugarcane plant crop. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 15, n. 4, p. 424-428, 2013.
- BRITTO, D.; KRONZUCKER, H. NH<sub>4</sub><sup>+</sup> toxicity in higher plants: a critical review. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 159, n. 6, p. 567-584, 2002.
- BURESH, R.J.; AUSTIN, E.R.; CRASWELL, E.T. Analytical methods in N research. **Fertilizer Research**, The Hague, v. 3, p. 37-62, 1982.
- CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.L.; FAÇANHA, A.R.; OLIVARES, F. 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**, Minneapolis, v. 130, n. 4, p. 1951-1957, 2002.
- CANELLAS, L.P.; ZANDONADI, D.; BUSDOTO, J.; BALDOTTO, M.; SIMOES, M. Bioactivity and chemical characteristics of humic acids from tropical soils sequence. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 173, n. 9, p. 624-637, 2008.
- CANELLAS, L.P.; ZANDONADI, D.B.; MÉDICI, L.O.; PÉRES, L.E.P.; OLIVARES, F.L.; FAÇANHA, R.A. Bioatividade de substâncias húmicas-ação sobre o metabolismo e desenvolvimento de plantas. In: CANELLAS, L.P.; SANTOS, G.A. **Humosfera**: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas. Campos dos Goytacazes: 2005. p. 224-243. Disponível em: <[http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/LSOL\\_2727\\_1154716116.pdf](http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/LSOL_2727_1154716116.pdf)>. Acesso em: 18 fev. 2014.

CANELLAS, L.P.; MEDICI, L.; CAMPOSTRINI, E.; BALMORI, D.; MÉDICI, L.; AGUIAR, N.; FAÇANHA, A.; OLIVARES, F. A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.). **Plant and soil**, The Hague, v. 366, n. 1/2, p. 119-132, 2013.

CANELLAS, L.P.; DOBBSS, L.B.; OLIVEIRA, A.L.; CHAGAS, J.G.; AGUIAR, N.O.; RUMJANEK, V.M.; NOVOTNY, E.H.; OLIVARES, F.L.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A. Chemical properties of humic matter as related to induction of plant lateral roots. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 63, n. 3, p. 315-324, 2012.

CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van. Adubação nitrogenada no Estado de São Paulo. In: SANTANA, M.B.M. (Ed.). **Adubação nitrogenada no Brasil**. Ilhéus: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1985. p.47-49.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.; VITTI, A. Nitrogênio e enxofre na cultura da cana-de-açúcar. YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S.; VITTI, G.C. (Ed.). **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira**. Piracicaba: IPNI, 2007. p. 355-412.

CARMONA, G.; CHRISTIANSON, C.B.; BYRNES, B.H. A comparison of the sulfur and oxygen analogs of phosphoric triamide urease inhibitors in reducing urea hydrolysis and ammonia volatilization. **Fertilizer Research**, The Hague, v. 26, n. 1/3, p. 21-27, 1990.

CHAPIN, F.S. The mineral nutrition of wild plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 11, n. 1, p. 233-260, 1980.

CHAPMAN, D.; LEMAIRE, G. Morphogenetic and structural determinants of plant regrowth after defoliation. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 17, 1993, Palmerston North. **Proceedings...** Austrália: s.ed., 1993. p.95-104.

CHEFETZ, B.; ADANI, F.; GENEVINI, P.; TAMBONE, F.; HADAR, Y. Humic-acid transformation during composting of municipal solid waste. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 27, n. 4, p. 794-800, 1998.

CHEN, J.; GU, B.; LEMBOEUF, E.; PAN, H.; DAI, S. Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. **Chemosphere**, Oxford, v. 48, n. 1, p. 59-68, 2002.

CHEN, Y.; AVIAD, T. Effects of humic substances on plant growth. In: INTERNATIONAL HUMIC SUBSTANCES SOCIETY. **Humic substances in soil and crop sciences: selected readings**. Chicago, 1990. p. 161-186.

CHEN, Y.; CLAPP, C.E.; MAGEN, H. Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: the role of organo-iron complexes. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 50, n. 7, p. 1089-1095, 2004.

CHRISTL, I.; KNICKER, H.; KOGEL KNABNER, I.; KRETZSCHMAR, R.; CHRISTL, H.; KNICKER, I.; KÖGEL KNABNER, R. Chemical heterogeneity of humic substances: characterization of size fractions obtained by hollow-fibre ultrafiltration. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 51, n. 4, p. 617-625, 2000.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar, safra 2013/2014 - segundo levantamento**. Brasília, 2013 19p.

CRICK, J.; GRIME, J. Morphological plasticity and mineral nutrient capture in two herbaceous species of contrasted ecology. **New Phytologist**, Cambridge, v. 107, n. 2, p. 403-414, 1987.

DONG, L.; YUAN, Q.; YUAN, H. Changes of chemical properties of humic acids from crude and fungal transformed lignite. **Fuel**, London, v. 85, n. 17-18, p. 2402-2407, 2006.

DONG, L.; YANG, J.; YUAN, H.; WANG, E.; CHEN, W. Chemical characteristics and influences of two fractions of Chinese lignite humic acids on urease. **European Journal of Soil Biology**, Montrouge, v. 44, n. 2, p. 166-171, 2008.

DONG, L.; CORDOVA KREYLOS, A.; YANG, J.; YUAN, H.; SCOW, K.; CORDOVA KREYLOS, A. Humic acids buffer the effects of urea on soil ammonia oxidizers and potential nitrification. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 41, n. 8, p. 1612-1621, 2009.

ENWALL, K.; NYBERG, K.; BERTILSSON, S.; CEDERLUND, H.; STENSTROM, J.; STENSTRÖM, J.; HALLIN, S. Long-term impact of fertilization on activity and composition of bacterial communities and metabolic guilds in agricultural soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 39, n. 1, p. 106-115, 2007.

FACANHA, A.L.O.; SANTOS, G.D.; FAÇANHA, A.; RUMJANEK, V.M.; OLIVARES, F.; GURIDI, F.; BRAZ-FILHO, R.; OLIVEIRA, M.A.D.; BRASIL, F.; SCHRIPSEMA, J.; BRAZ FILHO, R.; OLIVEIRA, M. de; CANELLAS, L. Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 9, p. 1301-1310, 2002.

FAO. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>>. Acesso em: 26 fev. 2012.

FERREIRA, D.A. **Eficiência agrônômica da ureia revestida com polímero na adubação de milho**. 2012. 85 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

FRANCIOSO, O.; SANCHEZCORTES, S.; TUGNOLI, V.; CIAVATTA, C.; SITTI, L.; SANCHEZ CORTES, S.; GESSA, C. Infrared, raman, and nuclear magnetic resonance ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , and  $^{31}\text{P}$ ) spectroscopy in the study of fractions of peat humic acids. **Applied spectroscopy**, Baltimore, v. 50, n. 9, p. 1165-1174, 1996.

FRANCO, M.A.J.; SARAIVA NETO, A. **Produção de fertilizantes nitrogenados e suprimento de matéria-prima**. Brasília: Ministério da Indústria e Comércio, 2008. 65p.

FINCK, A. **Dunger und dungung**. Berlin: Reverte, 1986. 420 p.

GAO, Y.; DESHUSSES, M. Adsorption of clofibric acid and ketoprofen onto powdered activated carbon: Effect of natural organic matter. **Environmental Technology**, London, v. 32, n. 15, p. 1719-1727, 2011.

GARNICA, M.; HOUDUSSE, F.; CLAUDE YVIN, J.; GARCIA-MINA, J.M. Nitrate supply induces changes in polyamine content and ethylene production in wheat plants grown with ammonium. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 166, n. 4, p. 363-374, 2009.

GEDROC, J.; MCCONNAUGHAY, K.; COLEMAN, J. Plasticity in root/shoot partitioning: optimal, ontogenetic, or both? **Functional Ecology**, Oxford, v. 10, n. 1, p. 44-50, 1996.

GINE, M.F.; BERGAMIN, H.; ZAGATTO, E.A.G.; GINÉ, M.F.; REIS, B.F. Simultaneous determination of nitrate and nitrite by flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 114, n. FEB, p. 191-197, 1980.

GOVINDASMY, R.; CHANDRASEKARAN, S. Effect of humic acids on the growth, yield and nutrient content of sugarcane. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 117/118, p. 575-581, 1992.

GOYAL, S.S.; LENZ, O.A.; HUFFAKER, R.C. Inhibitory effects of ammoniacal nitrogen on growth radish plants. I. Characterization of toxics of  $\text{NH}_4^+$  on growth and its alleviation by  $\text{NO}_3^-$ . **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, v. 107, p. 125-129, 1982.

GRIFFITH, S.M.; SCHNITZER, M. Analytical characteristics of humic and fulvic acids extracted from tropical volcanic soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 39, n. 5, p. 861-867, 1975.

GULLO, M.J.M. **Uso de condicionador de solo a base de ácido húmico na cultura de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*)**. 2007. 59p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

HAYES, M.; WILSON, W. **Humic substances, peats and sludges: Health and environmental aspects**. Cambridge: Athanaeum Press, 1997. 496 p.

HAYES, M.H.B.; MACCARTY, P.; MALCOLN, R.L.; SWIFT, R.S. The search for the structure: setting the scene. In: HAYES, M.H.B.; MACCARTHY, O.; MALCOLM, R.L.; SWIFT, R.S. (Ed.). **Humic substances II**. In search for the structure. Chichester: Wiley-Interscience, 1989. p.689-733.

HOTTZ RIMA, J.; MARTIM, S.; DOBBSS, L.; MEDEIROS EVARISTO, J.; RETAMAL, C. Citric acid addition improve humic acids action and change proteins profile from plasma membrane of maize roots. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 4, p. 614-620, 2011.

JANK, M.S. **Sugarcane ethanol**: producing sustainable food and fuel. Disponível em: <[http://www.brazil.org.uk/commercial/ftagriculture\\_files/ftsummit.02.unica.pdf](http://www.brazil.org.uk/commercial/ftagriculture_files/ftsummit.02.unica.pdf)>. Acesso em: 18 fev. 2014.

JARRELL, W.; BEVERLY, R. The dilution effect in plant nutrition studies. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 34, n. 1, p. 197-224, 1981.

JINDO, K.; HERNANDEZ, T.; GARCIA, C.; SANCHEZ MONEDERO, M.; HERNÁNDEZ, T.; GARCÍA, C.; SÁNCHEZ MONEDERO, M. Influence of stability and origin of organic amendments on humification in semiarid soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 75, n. 6, p. 2178-2187, 2011.

LAPIERRE, C.; MONTIES, B.; MEIER, D.; FAIX, O. Structural investigation of kraft lignins transformed via oxo-ammoniation to potential nitrogenous fertilizer. **Holzforschung**, Berlin, v. 48, p. 63-68, 1994.

LEWIS, O.A.M.; LEIDI, E.O.; LIPS, S.H. Effect of nitrogen source on growth response to salinity stress in maize and wheat. **New phytologist**, Cambridge, v. 111, n. 2, p. 155-160, 1989.

LUO, J.; QIN, J.; HE, F.; LI, H.; LIU, T.; POLLE, A.; PENG, C.; LUO, Z.-B. Net fluxes of ammonium and nitrate in association with H<sup>+</sup> fluxes in fine roots of *Populus popularis*. **Planta**, Berlin, v. 237, n. 4, p. 919-931, 2013.

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. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ceres, 1980. 251p.

\_\_\_\_\_. **Manual de química agrícola: adubos e adubação.** 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. 1981. 596p.

MARQUES JÚNIOR, R.B.; CANELLAS, L.P.; SILVA, L.G.D.; OLIVARES, F.L. Promoção de enraizamento de microtoletes de cana-de-açúcar pelo uso conjunto de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 32, p. 1121-1128, 2008.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants.** San Diego: Academic Press, 1995. 889 p.

MARTINS, P.O. **Cinética de absorção de silício por cultivares de cana-de-açúcar e arroz.** 2010. 119p. Dissertação (Mestrado em Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2010.

MEGDA, M.M. **Formas de nitrogênio e doses de potássio no capim-marandu: atributos morfológicos, produtivos, nutricionais e bioquímicos e transformações do nitrogênio em um Neossolo.** 2013. 119p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

MORA, V.N.; BACAICOA, E.; ZAMARRENO, A.M.; AGUIRRE, E.; GARNICA, M.; ZAMARREÑO, A.M.; FUENTES, M.; GARCÍA-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**, Stuttgart, v. 167, n. 8, p. 633-642, 2010.

MUSCOLO, A.; CUTRUPI, S.; NARDI, S. IAA detection in humic substances. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 30, n. 8/9, p. 1199-1201, 1998.

MUSCOLO, A.; BOVALO, F.; GIONFRIDDO, F.; NARDI, S. Earthworm humic matter produces auxin-like effects on *Daucus carota* cell growth and nitrate metabolism. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 31, n. 9, p. 1303-1311, 1999.

MUSCOLO, A.; FELICI, M.; CONCHERI, G.; NARDI, S. Effect of earthworm humic substances on esterase and peroxidase activity during growth of leaf explants of *Nicotiana plumbaginifolia*. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 15, n. 2, p. 127-131, 1993.

MUSCOLO, A.; PANUCCIO, M.R.; ABENAVOLI, M.R.; CONCHERI, G.; NARDI, S. Effect of molecular complexity and acidity of earthworm faeces humic fractions on glutamate dehydrogenase, glutamine synthetase, and phosphoenolpyruvate carboxylase in *Daucus carota* alpha II cells. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 22, n. 1/2, p. 83-88, 1996.

NANNIPIERI, P.; SASTRE, I.; LANDI, L.; PIETRAMELLARA, G.; LOBO, M.C. Determination of extracellular neutral phosphomonoesterase activity in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 28, n. 1, p. 107-112, 1996.

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; GESSA, C.; FERRARESE, L.; TRAINOTTI, L. A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 32, n. 3, p. 415-419, 2000.

NARDI, S.; CARLETTI, P.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A. Biological activities of humic substances. In: SENESI, N.; XING, B.; HUANG, P.M. (Ed.). **Biophysico-chemical processes involving natural nonliving organic matter in environmental systems**. New Jersey: Wiley, 2009. p.305-339.

NARDI, S.; CONCHERI, G.; PIZZEGHELLO, D.; STURARO, A.; RELLA, R.; PARVOLI, G. Soil organic matter mobilization by root exudates. **Chemosphere**, Oxford, v. 41, n. 5, p. 653-658, 2000.

NELSON, D.W.; SOMMERS, L.E. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: BLACK, C.A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: Soil Science Society of America; American Society of Agronomy, 1996. pt. 3: Chemical methods, p.961-1010.

NOMMIK, H.; VATHRAS, K. Retention and fixation of ammonia and ammonium in soil. In: STEVENSON, F.J. (Ed.). **Nitrogen in agricultural soils**. Madison: American Society of Agronomy, 1982. p. 123-171.

NOVAIS, R.F.; NEVES, J.C.L.; BARROS, N.F. Ensaio em ambiente controlado. In: OLIVEIRA, A.J.; GARRIDO, W.S.; ARAÚJO, J.D.; LOURENÇO, S. (Coord.). **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo**. Brasília: EMBRAPA, SEA, 1991. p. 189-253.

NOVOTNY, E.; DOBBSS, L.; BALMORI, D.; AGUIAR, N.; OLIVARES, F.; SANTOS JÚNIOR, L.; CHAGAS, J.; FAÇANHA, A.; CANELLAS, L. Bioactivity of humic acids isolated from vermicomposts at different maturation stages. **Plant and Soil**, The Hague, v. 362, n. 1/2, p. 161-174, 2013.

NYKO, D.; VALENTE, M.S.; MILANEZ, A.Y.; TANAKA, R.A.K.; RODRIGUES, A.V.O. A evolução das tecnologias agrícolas do setor sucroenergético: estagnação passageira ou crise estrutural? **BNDES Setorial**, n. 37, p. 399-442, 2013. Disponível em:  
<[http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes\\_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/bnset/set3710.pdf](http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/bnset/set3710.pdf)>. Acesso em: 18 fev. 2014.



OTTO, R. **Desenvolvimento de raízes e produtividade de cana-de-açúcar relacionados à adubação nitrogenadas.** 2007. 119p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

OTTO, R.; FRANCO, H.C.J.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O. Fitomassa de raízes e da parte aérea da cana-de-açúcar relacionada à adubação nitrogenada de plantio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, p. 398-405, 2009.

PINTON, R.; CESCO, S.; IACOLETTIG, G.; ASTOLFI, S.; VARANINI, Z. Modulation of  $\text{NO}_3^-$  uptake by water-extractable humic substances: involvement of root plasma membrane  $\text{H}^+$ ATPase. **Plant and Soil**, The Hague, v. 215, n. 2, p. 155-161, 1999.

PIZZEGHELLO, D.; NICOLINI, G.; NARDI, S. Hormone-like activity of humic substances in *Fagus sylvatica* forests. **New phytologist**, Cambridge, v. 151, n. 3, p. 647-657, 2001.

QUAGGIOTTI, S.; RUPERTI, 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, n. 398, p. 803-813, 2004.

RAYLE, D.L.; CLELAND, R.E. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 99, n. 4, p. 1271-1274, 1992.

REDE INTERUNIVERSITÁRIA PARA O DESENVOLVIMENTO DO SETOR SUCROALCOOLEIRO. **Catálogo nacional de variedades “RB” de cana-de-açúcar.** Curitiba, 2010. 136 p.

REIS, B.F.; VIEIRA, J.A.; KRUG, F.J.; GINE, M.F. Development of a flow injection system with two analytical paths for ammonium determination in soil extracts by conductometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 8, n. 5, p. 523-528, 1997.

REYNOLDS, C.M.; WOLF, D.C.; ARMBRUSTER, J.A. Factors related to urea hydrolysis in soils. **Soil Science Society of America journal**, Madison, v. 49, n. 1, p. 104-108, 1985.

ROCHA, J.C.; ROSA, A.H. **Substâncias húmicas aquáticas: interações com espécies metálicas.** São Paulo: UNESP, 2003. 120 p.

RUBIO, V.; BUSTOS, R.; IRIGOYEN, M.L.; CARDONA-LÓPEZ, X.; ROJAS-TRIANA, M.; PAZ-ARES, J. Plant hormones and nutrient signaling. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 69, n. 4, p. 361-373, 2009.

SAKAKIBARA, H. Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 57, p. 431-449, 2006.

SAKAKIBARA, H.; TAKEI, K.; HIROSE, N. Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 11, n. 9, p. 440-448, 2006.

SAMPAIO, E.V.S.B.; SALCEDO, J.H.; CAVALCANTI, F.J.A. Dinâmica de nutrientes em cana-de-açúcar: III. Conteúdo de nutrientes e distribuição do sistema radicular no solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.22, p.425-431, 1987.

SAS INSTITUTE. **SAS® 9.1.2 windows**. Cary, 2004. 2 CD-ROM.

SEEMANN, J.R.; SHARKEY, T.D.; WANG, J.; OSMOND, C.B. Environmental effects on photosynthesis, nitrogen-use efficiency, and metabolite pools in leaves of sun and shade plants. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 84, n. 3, p. 796-802, 1987.

SMITH, D.M.; INMAN BAMBER, N.G.; THORBURN, P.J. Growth and function of the sugarcane root system. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 92, n. 2/3, p. 169-183, 2005.

SOUZA, C.C.D.; OLIVEIRA, F.A.D.; SILVA, I.D.F.D.; AMORIM NETO, M.D.S. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campinas Grande, v. 4, p. 338-342, 2000.

STEHR, G.; BÖTTCHER, B.; DITTBERNER, P.; RATH, G.; KOOPS, H.P. The ammonia-oxidizing nitrifying population of the River Elbe estuary. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 17, n. 3, p. 177-186, 1995.

SZCZERBA, M.; BRITTO, D.; ALI, S.; BALKOS, K.; KRONZUCKER, H. NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-stimulated and -inhibited components of K<sup>+</sup> transport in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 59, n. 12, p. 3415-3423, 2008.

TILMAN, D. **Plant strategies and the dynamics and structure of plant communities**. Princeton: Princeton University Press, 1988. 363 p.

TREVISAN, S.; FRANCIOSO, O.; QUAGGIOTTI, S.; NARDI, S. Humic substances biological activity at the plant-soil interface: from environmental aspects to molecular factors: a review. **Plant Signalling & Behavior**, Austin, v.5, p. 635-643, 2010.

TRIVELIN, P.; VITTI, A.; OLIVEIRA, M.D.; GAVA, G.; SARRIÉS, G. 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**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 637-646, 2002.

VAUGHAN, D.; MALCOLM, R. Influence of humic substances on growth and physiological processes. In: \_\_\_\_\_. (Ed.). **Soil organic matter and biological activity**: Oxford: Springer, 1985. p.37-75. (Development in Plant and Soil Science, 16).

ZANDONADI, D.B.; PASQUALOTO CANELLAS, L.; ROCHA FACANHA, A.; CANELLAS, L.; FAÇANHA, A. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H<sup>+</sup> pumps activation. **Planta**, Berlin, v. 225, n. 6, p. 1583-1595, 2007.

ZANDONADI, D.B.; SANTOS, M.P.; BUSATO, J.G.; PERES, L.E.P.; FAÇANHA, A.R. Plant physiology as affected by humified organic matter. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, Campo dos Goytacazes, v. 25, n. 1, p. 13-25, 2013.

ZHANG, N.; ZHANG, W.L.; TIAN, Z.X.; LI, X.Q. Nitrate pollution of groundwater in northern China. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 59, n. 3, p. 223-231, 1996.