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

**Adubação nitrogenada em soqueiras de cana-de-açúcar: influência
do uso em longo prazo de fontes e/ou doses de nitrogênio**

Beatriz Nastaro Boschiero

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

**Piracicaba
2017**

Beatriz Nastaro Boschiero
Engenheira Agrônoma

**Adubação nitrogenada em soqueiras de cana-de-açúcar: influência do
uso em longo prazo de fontes e/ou doses de nitrogênio**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

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

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

Piracicaba
2017

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

Boschiero, Beatriz Nastaro

Adução nitrogenada em soqueiras de cana-de-açúcar: influência do uso em longo prazo de fontes e/ou doses de nitrogênio / Beatriz Nastaro Boschiero. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2017.

232 p.

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

1. *Saccharum* spp. 2. Fontes de N 3. Doses de N 4. Eficiência de uso de N 5. Absorção de nutrientes 6. Técnica isotópica 7. Nitrato 8. Amônio I.
Título

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

Aos meus pais, **Marlene** e **Francisco** pela
educação, carinho e incentivo, e aos meus
irmãos **Evandro** e **Felipe** pelas lembranças
que levarei pelo resto da vida.

DEDICO

Ao meu marido, **Renato Alcindo Boschiero**,
pelo amor, companheirismo e constante
estímulo durante essa caminhada.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelo dom da vida e pela oportunidade de sempre buscar novas informações e capacitações.

Ao Prof. Dr. Paulo Cesar Ocheuze Trivelin pelo exemplo de orientador a ser seguido. Pelos ensinamentos, caráter e disponibilidade em atender com cordialidade e entusiasmo inúmeras vezes que bati à sua porta, sempre disposto a discutir e solucionar problemas, que devido à sua experiência não eram tão grandes assim. Agradeço pela oportunidade e por todo o conhecimento compartilhado durante este tempo.

À minha família que me formou em caráter e princípios.

Ao meu marido Renato Alcindo Boschiero pelo companheirismo e atenção nas horas fáceis e difíceis.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) pela excelência de ensino e infraestrutura.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), em especial ao Laboratório de Isótopos Estáveis (LIE), pelo suporte técnico e laboratorial.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de estudo (Processo nº 2013/17278-1).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos entre março a julho de 2013.

Ao Programa de Pós Graduação em Solos e Nutrição de Plantas – ESALQ-USP pela oportunidade novamente concedida, agora no doutorado.

À Usina São José da Estiva (Usina Estiva) pela concessão de uso das áreas experimentais de campo por um período de cinco anos; pelas informações sobre o histórico das mesmas e pela concessão de equipe de campo, que foram fundamentais para a condução da pesquisa.

À Yara International ASA pelo financiamento parcial do projeto de campo.

Ao Centro de Tecnologia Canavieira (CTC), especialmente ao José Anderson Forti, Claudemir Pedro Penatti e José Luiz Donzelli, pelo apoio nas avaliações de campo.

Ao Professor Dr. Rafael Otto pela colaboração no projeto de campo.

Ao Professor Dr. Ricardo Antunes de Azevedo pela colaboração na condução de análises deste projeto no Laboratório de Genética Bioquímica de Plantas e a Dra. Salete A. Gaziola e alunos de doutorado Karina Reis, Márcia Carvalho, Mônica Franco e Fabiana Belini pelo auxílio e ensinamentos partilhados.

Ao Professor Dr. José Lavres Júnior pela concessão do espaço da casa vegetação do CENA-USP para condução dos experimentos e à Cleusa Cabral por todo auxílio.

Ao professor Dr. José Laércio Favarin pela liberação do Laboratório Multiusuário da ESALQ/USP para avaliações do sistema radicular.

Ao professor Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias pelo auxílio na análise estatística dos experimentos de campo.

A equipe do Laboratório Isótopo Estável-CENA/USP: Professor Dr. José Albertino Bendassoli e aos funcionários: Ana Paula, Bento, Glauco, Juliana, Pingin, Magda e Miguel pelo excelente ambiente de trabalho e laços de amizade construídos. Em especial ao Hugo H. Batagello pela amizade, disponibilidade e apoio nos experimentos de campo e análises laboratoriais.

Aos colegas de Pós-Graduação: Eduardo Mariano, Evandro L. Schoninger, Hugo A. G. Villalba, Greice Leal, José M. Leite, Luis Felipe Rinaldi, Karine B.G. Campos, Lucas P. Miachon, Maria S. C. D'Andrea, Michele X. V. Megda, Nicole C. Cheng, Oriel T. Kölln, Paulo R. C. Lazzarini,

Pedro L. Garcia, Thales M. S. Sattolo pelos momentos de descontração, colaboração e amizade compartilhados.

Aos estagiários: Carolina Zacarias, Davi Camargo, Jussara Pereira, João Luis Bigatão, Gabriela Frederici, Luis Alexandre, Lucas Basso, Elis Dias e Henrique Mendes, pelo apoio na condução deste trabalho.

A todos os colegas de Pós-graduandos da ESALQ-USP e CENA-USP que convivi durante o período de 2011 a 2016.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste estudo, mesmo não sendo mencionado nominalmente, meu **muito obrigado!**

“A ciência nunca resolve um problema sem criar pelo menos outros dez”

George Bernard Shaw

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”

José de Alencar

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 MANEJO DO NITROGÊNIO EM LONGO PRAZO EM SOQUEIRAS DE CANA-DE-AÇÚCAR: EFEITOS NA PRODUTIVIDADE, PARÂMETROS TECNOLÓGICOS, ACÚMULO DE NUTRIENTES E ALTERAÇÕES NOS ATRIBUTOS DO SOLO...23	
Resumo	23
Abstract.....	23
2.1 Introdução.....	24
2.2 Material e métodos	29
2.2.1 Localização, delineamento experimental e condução dos experimentos	29
2.2.2 Histórico das áreas experimentais	34
2.2.3 Colheita mecânica e análise tecnológica	36
2.2.4 Avaliação da palha residual	36
2.2.5 Produção de biomassa seca e acúmulo de macronutrientes.....	37
2.2.6 Balanço parcial de macronutrientes.....	38
2.2.7 Amostragem para fins de caracterização da fertilidade do solo.....	39
2.2.8 Análise estatística	40
2.3 Resultados e discussão	40
2.3.1 Condições ambientais.....	40
2.3.2 Produtividade de colmos e de açúcar.....	41
2.3.3 Análise tecnológica dos colmos.....	47
2.3.4 Acúmulo de biomassa seca nos compartimentos da cana-de-açúcar.....	50
2.3.5 Acúmulo de N, P e K nos compartimentos vegetais.....	54
2.3.6 Balanço parcial de macronutrientes no sistema solo-planta.....	63
2.3.7 Alterações nos atributos químicos do solo.....	73
2.4 Conclusões	80
Referências.....	80
3 INFLUÊNCIA DA RELAÇÃO NITRATO: AMÔNIO NO CRESCIMENTO, PRODUÇÃO, NUTRIÇÃO E METABOLISMO DA CANA-DE-AÇÚCAR.....	95
Resumo	95
Abstract.....	95
3.1 Introdução	96
3.2 Material e métodos.....	101
3.2.1 Variedade de cana-de-açúcar e tratamentos	101

3.2.2	Medições de crescimento e de produção de biomassa seca das plantas	104
3.2.3	Acúmulo de macronutrientes, N-NO_3^- , N-NH_4^+ e abundância isotópica.....	105
3.2.4	Teor de clorofila a e b, carotenoides e valor SPAD	105
3.2.5	Medidas de trocas gasosas.....	107
3.2.6	Análise morfológica do sistema radicular	107
3.2.7	Eficiência de utilização de N.....	108
3.2.8	Atividade da redutase do nitrato e sintetase da glutamina	108
3.2.9	Peroxidação lipídica e quantificação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2).....	110
3.2.10	Determinação de proteínas	111
3.2.11	Atividade das enzimas do ciclo do estresse oxidativo	111
3.2.12	Análise estatística	112
3.3	Resultados e discussão.....	113
3.3.1	Alteração no pH da solução nutritiva.....	113
3.3.2	Crescimento e produção de biomassa seca.....	115
3.3.3	Acúmulo de macronutrientes na cana-de-açúcar relacionado à disponibilidade de NO_3^- e/ou NH_4^+	121
3.3.4	Concentração de clorofila, carotenoides e valor SPAD.....	127
3.3.5	Trocas gasosas.....	129
3.3.6	Análise morfológica do sistema radicular.....	133
3.3.7	Eficiência de uso de nitrogênio.....	136
3.3.8	Composição isotópica das plantas em $\delta^{15}\text{N}$	138
3.3.9	Atividade enzimática da redutase do nitrato e sintetase da glutamina.....	143
3.3.10	Conteúdo de proteína solúvel.....	145
3.3.11	Conteúdo de MDA, H_2O_2 e atividade de enzimas antioxidantes (CAT, GR e SOD).....	146
3.4	Conclusões.....	149
	Referências	150
4	A 'PREFERÊNCIA' DE ABSORÇÃO POR AMÔNIO CONFERE MAIOR EFICIÊNCIA DE USO DE NITROGÊNIO NA CANA-DE-AÇÚCAR?.....	165
	Resumo	165
	Abstract	165
4.1	Introdução.....	166
4.2	Material e métodos.....	170
4.2.1	Experimento em campo.....	170
4.2.2	Experimento em condições controladas de casa-de-vegetação.....	177
4.3	Resultados e discussão.....	181

4.3.1 Produção de biomassa seca e acúmulo de N em campo.....	181
4.3.2 Aproveitamento do N-fertilizante pela cana-de-açúcar em condições de campo.....	185
4.3.3 Balanço do ^{15}N no sistema solo-planta em condições de campo.....	191
4.3.4 Crescimento, produção de biomassa seca e acúmulo de macronutrientes em condições controladas de casa-de-vegetação.....	195
4.3.5 Aproveitamento do ^{15}N -nitrato e ^{15}N -amônio pela cana-de-açúcar em condições controladas.....	199
4.4 Conclusões	205
Referências.....	205
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	215
5.1 Adubação nitrogenada em soqueiras de cana-de-açúcar.....	215
5.2 'Preferência' da cana-de-açúcar pelo amônio.....	217
APÊNDICES	219
ANEXOS.....	225

RESUMO

Adubação nitrogenada em soqueiras de cana-de-açúcar: influência do uso em longo prazo de fontes e/ou doses de nitrogênio

O uso de determinadas fontes nitrogenadas, doses e formas de nitrogênio (N) pode aumentar a eficiência de uso de N (EUN) em soqueiras de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), mantendo, em longo prazo, elevados índices de produtividade, lucro e proteção ao ambiente. Experimentos de campo e de casa-de-vegetação foram desenvolvidos com os seguintes objetivos: (i) avaliar o efeito do manejo do N-fertilizante e dos ciclos de soqueira da cultura na produtividade, parâmetros tecnológicos, acúmulo de biomassa, acúmulo e balanço de nutrientes e nas alterações dos atributos químicos do solo; (ii) avaliar a produção de biomassa seca, metabolismo e nutrição de plantas de cana-de-açúcar cultivadas em solução nutritiva, com suprimento exclusivo ou misto de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) como fontes de N; (iii) avaliar a EUN do ^{15}N -nitrato ($^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$), ^{15}N -amônio ($\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$) e ^{15}N -amida [$(^{15}\text{NH}_2)_2\text{CO}$] aplicados na quarta soqueira de cana-de-açúcar em condições de campo; e avaliar a EUN do ^{15}N -amônio e ^{15}N -nitrato aplicados em mudas de cana-de-açúcar cultivadas em solução nutritiva. No campo, o N-fertilizante foi repetido nas mesmas parcelas experimentais (parcelas estáticas), em anos subsequentes (quatro ou cinco soqueiras) e o manejo de N-fertilizante, que incluiu fontes e doses de N, não influenciou na produtividade de colmos e de açúcar no local 1 (Latossolo Vermelho Amarelo distrófico - LVAd). Entretanto, no local 2 (também LVAd), o NA100 e o NAC100 [nitrato de amônio (NA) e nitrato de amônio e cálcio (NAC), ambos na dose de 100 kg ha⁻¹ de N] foram os manejos mais vantajosos para a obtenção das maiores produtividades de colmo e de açúcar em soqueiras quando comparado aos demais tratamentos. No geral, nos dois locais, o NAC150 (150 kg ha⁻¹ de N) proporcionou os maiores acúmulos de biomassa, N e K nas plantas. Além disso, enquanto o controle (sem adição de N) apresentou as menores produções de biomassa e acúmulos de nutrientes (com exceção ao P), o balanço de nutrientes do solo nesse tratamento foi relativamente neutro após anos de cultivo da cana-de-açúcar. Em condições controladas, plantas de cana-de-açúcar supridas exclusivamente com amônio apresentaram menor produção de biomassa, acúmulo de nutrientes e área foliar do que os outros tratamentos (supridos com combinações de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e somente com nitrato), indicando que o uso exclusivo dessa forma de N não foi eficiente para sustentar o crescimento vegetal. A maior EUN foi obtida com o fornecimento exclusivo de nitrato, que também proporcionou maior produção de biomassa seca, área foliar, acúmulo de macronutrientes, atividade fotossintética e crescimento do sistema radicular. A utilização de ^{15}N indicou que, no campo, não houve diferença na EUN pelas plantas devido à utilização do ^{15}N -nitrato e ^{15}N -amônio. Em contraste, a EUN do ^{15}N -amônio foi maior que a do ^{15}N -nitrato durante o 1º, 4º e 7º dia após a aplicação do fertilizante (DAAF), em condições controladas. Contudo, o uso do ^{15}N -nitrato teve maior EUN nas raízes e planta inteira que o ^{15}N -amônio no 15º DAAF. Isso indica que a cana-de-açúcar pode aproveitar eficientemente as duas formas minerais de N, embora o aproveitamento do amônio seja mais rápido.

Palavras-chave: *Saccharum* spp.; Produtividade de colmos; Acúmulo de nutrientes; Balanço de nutrientes no solo; Eficiência de uso do N; Nitrato; Amônio

ABSTRACT

Nitrogen fertilization in sugarcane ratoon: long-term effects of fertilizers and nitrogen rates

The use of different fertilizers and rates of nitrogen (N) can increase the N use efficiency (NUE) in sugarcane ratoon (*Saccharum* spp.), sustaining high yield levels, profitability and environmental protection in long-term. Thus, field and greenhouse studies were performed with the following objectives: (i) evaluate the effect of fertilizer-N management and ratoon crop cycles on sugarcane yield, technological parameters, biomass accumulation, nutrient content, temporal variation in soil chemical properties and soil nutrient balance; (ii) evaluate the biomass production, metabolism and nutrient acquisition of sugarcane plants cropped in nutrient solution, with solely or combined supply of ammonium and nitrate as N sources; (iii) evaluate the NUE of ^{15}N -ammonium ($^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$), ^{15}N -nitrate ($\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$), and ^{15}N -amide [$(^{15}\text{NH}_2)_2\text{CO}$] applied to sugarcane under field conditions and the NUE of ^{15}N -ammonium and ^{15}N -nitrate applied to seedlings sugarcane under nutrient solutions. In the field, N fertilizers were replicated in the same experimental plots (static plots) in subsequent years (four or five ratoons) and the management of N-fertilizer, which included fertilizers and N rates, resulted in lack of influence on cane and sucrose yield at Site 1 (Typic Hapludox). However, at Site 2 (also Typic Hapludox), the N treatments AN100 and CAN100 [ammonium nitrate (AN) and calcium ammonium nitrate (CAN), both at a rate of 100 kg N ha^{-1}] provided the highest cane and sugar yield as compared to the remaining treatments. Overall, at both sites, CAN150 (150 kg N ha^{-1}) resulted in the highest biomass accumulation and N and K content by sugarcane. In addition, while the control (no N added) had the lowest biomass accumulation and nutrient content (except for P), the soil nutrient balance in this treatment was relatively neutral, after years of sugarcane cultivation. Under controlled conditions, NH_4^+ -fed plants presented lower biomass accumulation, nutrient content and leaf area than the other treatments (different $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratios and NO_3^- -fed plants), indicating that this N form, when applied solely, was not effective for the proper plant growth. The highest NUE was obtained with NO_3^- -fed plants, which also had the highest production of dry biomass, leaf area, nutrient accumulation, photosynthetic activity, and growth of the root system. The use of ^{15}N -nitrate and ^{15}N -ammonium indicated that there was no difference in NUE by plants in the field. In contrast, the NUE of ^{15}N -ammonium was greater than ^{15}N -nitrate during the 1st, 4th and 7th day after fertilizer application (DAFA), under controlled conditions. However, the use of ^{15}N -nitrate had greater NUE in roots and whole plant than ^{15}N -ammonium in the 15th DAFA. It can be concluded that sugarcane can use both N forms although the recovery of NH_4^+ was faster than NO_3^- .

Keywords: *Saccharum* spp.; Sugarcane yield; Nutrient content; Soil nutrient balance; Nitrogen use efficiency; Nitrate; Ammonium

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma cultura extremamente versátil e é a mais eficiente em termos de produção de biomassa por unidade de área e no uso de N em regiões tropicais, especialmente as brasileiras, o que se deve ao seu eficaz aparato fotossintético de ciclo C4, que apresenta grande habilidade de conversão da energia luminosa em energia química, armazenada na planta (HUANG; LONG; SINGH, 2016). Tão importante quanto à alta produção de biomassa é a sua conversão em energia aproveitável através de processos industriais. A partir do colmo da cana-de-açúcar é extraída a sacarose, que pode ser utilizada como adoçante, uma matéria-prima para várias sínteses químicas, ou para a fermentação de bebidas alcoólicas, ou de biocombustível (etanol) (AMORIM et al., 2011). O bagaço da cana-de-açúcar, um resíduo ligno-celulósico obtido a partir da extração da sacarose, e mais recentemente a palhada da cana-de-açúcar depositada no campo, ambos resíduos culturais, também estão sendo utilizados pelas usinas canavieiras para cogeração de energia elétrica, cujos excedentes à necessidade da usina são vendidos para a rede elétrica, e usados até mesmo para a produção de etanol de segunda geração (GOLDEMBERG, 2007; ROCHA et al., 2012; LONG et al., 2015). Isto faz com que a cultura apresente alto índice de aproveitamento da biomassa vegetal com relativo baixo impacto ambiental. O sistema de cultivo da cana-de-açúcar pode fornecer um balanço positivo de energia, com benefícios ambientais devido à baixa emissão de gases do efeito estufa (GEE) (GOLDEMBERG; COELHO; GUARDABASSI, 2008), o que ocorre principalmente quando a cana é colhida sem despalha a fogo devido ao sequestro de carbono (GRAHAM; HAYNES; MEYER, 2002; SILVA-OLAYA et al., 2013). Nesse contexto, o etanol gerado a partir da cana-de-açúcar se destaca como combustível renovável, de baixo impacto ambiental (GOLDEMBERG; COELHO; GUARDABASSI, 2008) e o Brasil se destaca no setor sucroenergético como maior produtor mundial da cultura (CONAB, 2016).

Além da sua atual flexibilidade para a produção de açúcar e etanol, novos estudos com a cultura focam modificações genéticas, por exemplo, para o acúmulo de óleo (lipídio) e produção de biodiesel, de acordo com Huang, Long e Singh (2016). Segundo esses autores, a cana-óleo, como vem sendo chamada, pode vir a gerar biodiesel mais barato que o oriundo da soja e ser, até mesmo, mais competitivo que o tradicional óleo diesel, subproduto do petróleo, caso a cana-de-

açúcar consiga acumular 20% de seu peso como triglicerídeos. Isso aumentaria ainda mais o interesse na cultura, cuja demanda estimada é de ascensão.

A colheita da cana-de-açúcar na maior parte do estado de São Paulo, responsável por 55% da produção nacional (CONAB, 2016), é realizada mecanicamente sem despalha a fogo, e os resíduos culturais (folhas secas e ponteiros) são depositados sobre a superfície do solo. A palhada da cana-de-açúcar presente sobre o solo traz uma série de benefícios químicos, físicos e biológicos ao sistema de cultivo, como manutenção da umidade do solo, ciclagem de nutrientes, aumento nos teores de C do solo, redução nas emissões de GEE, entre outros (GALDOS; CERRI; CERRI, 2009; CARDOSO et al., 2013; CERRI et al., 2013; TRIVELIN et al., 2013; FRANCO et al., 2015). Contudo, dentre uma das desvantagens da presença da palhada recobrindo os solos no campo, está a quase inviabilização da incorporação dos fertilizantes ao solo. Dessa forma, a aplicação dos fertilizantes, incluindo os nitrogenados, passou a ser realizado superficialmente em cima da palha. Com isso a ureia, fertilizante tradicionalmente utilizado na cultura, passou a apresentar elevadas perdas por volatilização de amônia (COSTA; VITTI; CANTARELLA, 2003; CANTARELLA et al., 2008; MARIANO et al., 2012).

A fim de se obter maior eficiência no uso dos fertilizantes nitrogenados, com consequente aumento na eficiência de produção da cana-de-açúcar e sustentabilidade do sistema produtivo, novas fontes de fertilizantes nitrogenados vêm sendo avaliadas na cultura, como o sulfato de amônio, nitrato de amônio, cloreto de amônio, nitrato de amônio e cálcio, fertilizantes organominerais, entre outros (MARIANO et al., 2015; VIEIRA-MEGDA et al., 2015; MARIANO et al., 2016). Contudo, apesar de ser primordial para o crescimento vegetal e aumento de produtividade para muitas culturas, as respostas à adubação com N na cana-de-açúcar são ambíguas. Enquanto alguns trabalhos mostram aumento de produtividade com o aumento nas doses de N (ORLANDO FILHO et al., 1999; FORTES, 2010; ROSSETTO et al., 2010; MARIANO, 2015), muitos estudos não relataram essas referidas respostas, indicando ausência de incremento em produtividade com a aplicação do N-fertilizante (PRADO; PANCELLI, 2008; OTTO et al., 2013; MARIANO, 2015; OTTO et al., 2016).

A ausência de resposta à adubação nitrogenada na cana-de-açúcar pode estar ligada a uma série de fatores. Por apresentar um ciclo relativamente longo, de aproximadamente 12 meses no campo, comparado a culturas anuais cujo ciclo

produtivo é de 3 a 4 meses, a cana-de-açúcar está sujeita a muitas variações climáticas e ambientais que podem influenciar nas respostas da cultura à adubação nitrogenada, incluindo variações de temperatura e precipitação. Além disso, outras fontes de N podem vir a contribuir na nutrição da cultura, principalmente nos estádios intermediários de crescimento. Isso porque, como mostrado por Franco et al (2011), os fertilizantes têm papel fundamental no desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar, podendo ser responsáveis por até 70% do N da soqueira. Contudo, à medida que a cana-de-açúcar se desenvolve, outras fontes passam a contribuir para a nutrição vegetal, e no final do ciclo agrícola essa contribuição passa a ser de no máximo 30% (FRANCO et al., 2011). Dentre essas fontes que podem contribuir para a nutrição da cana-de-açúcar estão: a mineralização da matéria orgânica do solo, a fixação biológica de N, a ciclagem de nutrientes da palha, a utilização de rotação com leguminosas na renovação do canavial, a absorção de compostos orgânicos de baixo peso molecular, entre outros (FRANCO et al., 2011; URQUIAGA et al., 2012; VINALL et al., 2012; TRIVELIN et al., 2013; VIEIRA-MEGDA et al., 2015; FERREIRA et al., 2016). Um dos maiores problemas associados com a obtenção de respostas ou de ausência de respostas à adubação nitrogenada pode estar relacionado com a avaliação de apenas um ou dois ciclos agrícolas. Isso porque, como mencionado, as variações climáticas de cada ano agrícola podem ter uma grande influência na resposta da cultura. Desta forma, a avaliação da cana-de-açúcar por um maior período de tempo asseguraria as respostas da cultura em determinadas condições.

A maioria dos estudos sobre nutrição nitrogenada dá ênfase às fontes inorgânicas de N, motivados principalmente pelo papel proeminente dessas formas minerais em solos aráveis e pela dependência da maioria das espécies de plantas cultivadas por essas formas de N, além também da grande quantidade de fertilizantes minerais disponíveis para uso agrícola (NÄSHOLM; KIELLAND; GANETEG, 2009). Além disso, atualmente, muitos trabalhos vêm abordando a importância de se distinguir e conhecer as formas inorgânicas ‘preferenciais’ de N absorvidas pelas plantas (BOUDSOCQ et al., 2012; ANDREWS et al., 2013; BRITTO; KRONZUCKER, 2013; BLOOM, 2015; ZHANG et al., 2016), uma vez que este fato irá influenciar diretamente no metabolismo, crescimento e produção de culturas agrícolas. A produção das plantas e as perdas do N-mineral dependem da “preferência” de nitrato *versus* amônio, das taxas de nitrificação (e das habilidades das plantas em inibi-las ou estimulá-las) e da entrada externa dessas fontes de N

mineral (BOUDSOCQ et al., 2012); sendo a eficiência de uso de N (EUN) também dependente da forma de N absorvida e utilizada pelas plantas (ANDREWS et al., 2013).

As plantas têm a capacidade de obter o N do ambiente em diversas formas: amônio, nitrato e compostos orgânicos de baixo peso molecular como aminoácidos e peptídeos, mas a principal via de entrada de N nas plantas é pela absorção radicular de nitrato e amônio (EPSTEIN; BLOOM, 2006). A preferência das plantas por uma ou outra forma depende de uma série de fatores. Recentemente um trabalho desenvolvido na Austrália indicou que a cana-de-açúcar tem absorção preferencial pelo amônio (ROBINSON et al., 2011), o que impediria o aproveitamento de elevadas concentrações de nitrato dos solos, principalmente nos três primeiros meses do período de crescimento da cultura, deixando assim, esse ânion mais vulnerável as perdas, que podem trazer prejuízos ambientais. Quando absorvido na forma de amônio, a assimilação do N exige um gasto energético cinco vezes menor do que quando a planta absorve o N na forma de nitrato, visto que o nitrato precisa ser reduzido a amônio dentro das células, exigindo gasto de energia redutora na forma de NADH ou NADPH (BRITTO; KRONZUCKER, 2013). Dessa forma, a absorção do amônio poderia favorecer o crescimento inicial da cana-de-açúcar em condições de campo, visto que grandes quantidades de raízes se desenvolvem superficialmente sob a palha em decomposição (VITTI et al., 2007).

Apesar de o amônio ter sido apontado como fonte 'preferencial' pela cana-de-açúcar, muitos trabalhos em condições controladas revelam que a absorção de amônio em elevadas quantidades causa efeito negativo no crescimento das plantas, e os possíveis mecanismos citados na literatura para explicar a toxidez de amônio são: desordens na regulação do pH celular, desacoplamento do transporte de elétrons pela fosforilação (GOYAL; LORENZ; HUFFAKER, 1982), alteração na glicólise de proteínas, acidificação da zona radicular (WALCH-LIU et al., 2000), competição na absorção com outros cátions, como o potássio - K^+ (KRONZUCKER; SZCZERBA; BRITTO, 2003; HELALI et al., 2010; TEN HOOPEN et al., 2010) e aumento do consumo de C pelas raízes. Além disso, em condições tropicais, os fertilizantes amoniacais tendem a ser rapidamente nitrificados (CANTARELLA, 2007; MARIANO et al., 2015), o que levanta questionamentos sobre a real preferência de absorção e eficiência de uso do amônio para a cana-de-açúcar.

Diante do estado da arte apresentado, foram consideradas nesse estudo as seguintes hipóteses: i) as fontes de N: nitrato de amônio (NA) e nitrato de amônio e cálcio (NAC) apresentarão maior eficiência agronômica, respondendo em maiores produtividades, comparada à fonte amídica (ureia - UR) que tende a apresentar maiores perdas de N por volatilização de amônia; ii) Levando-se em conta a necessidade do aumento da longevidade dos canaviais, a necessidade de redução dos custos de produção e proteção do meio ambiente, o manejo do N-fertilizante mais adequado conseguirá manter elevados patamares de produtividade das soqueiras após anos de cultivo; iii) As plantas de cana-de-açúcar cultivadas em condições controladas apresentam melhor produção e nutrição quando as duas formas de N (nitrato e amônio) estiverem disponíveis às plantas e o suprimento exclusivo de amônio irá resultar em menor crescimento e surgimento de algum tipo de estresse às plantas crescidas em condições controladas; iv) a relatada “preferência” da cana-de-açúcar pelo amônio poderia aumentar a EUN pela cana-de-açúcar cultivada no campo, devido à presença de grande quantidade de raízes superficiais presente sobre a palha em decomposição, que poderiam absorver o N nesta forma iônica, antes que o mesmo fosse nitrificado; v) A maior EUN pela fonte amônio em detrimento ao nitrato nos primeiros dias após a aplicação do ^{15}N que é relatada para a cana-de-açúcar, pode ser modificada com maior tempo de exposição das raízes às formas minerais de N.

Para testar as hipóteses formuladas, o presente estudo foi dividido em três capítulos dentro dos seguintes objetivos:

a) Avaliar a influência do manejo do N-fertilizante e dos ciclos de soqueiras da cana-de-açúcar na produtividade de colmos e de açúcar, na análise tecnológica, no acúmulo e balanço de nutrientes e nas alterações das propriedades químicas do solo;

b) Avaliar o crescimento, produção, metabolismo e nutrição das plantas de cana-de-açúcar supridas com combinações de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, em condições controladas.

c) Avaliar em condições de campo a eficiência de uso do ^{15}N -amídico, ^{15}N -nitrato e ^{15}N -amônio pela quarta soqueira de cana-de-açúcar, analisando também as perdas que cada uma das formas de N gera no sistema solo-planta após um ciclo de cultivo de soqueira; e avaliar em condições controladas de casa-de-vegetação a

eficiência de uso do ^{15}N -nitrato e ^{15}N -amônio em quatro tempos após a disponibilização dessas formas minerais enriquecidas em ^{15}N em meio hidropônico.

Referências

AMORIM, H.V.; LOPES, M.L.; OLIVEIRA, J.V.D.; BUCKERIDGE, M.S.; GOLDMAN, G.H. Scientific challenges of bioethanol production in Brazil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 91, p. 1267-1275, 2011.

ANDREWS, M.; RAVEN, J.A.; LEA, P.J. Do plants need nitrate? The mechanisms by which nitrogen form affects plants. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 163, p. 174, 199, 2013.

BLOOM, A.J. The increasing importance of distinguishing among plant nitrogen sources. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 25, p. 10-16, 2015.

BOUDSOCQ, S.; NIBOYET, A.; LATA, J.C.; RAYNAUD, X.; LOEUILLE, N.; MATHIEU, J.; BLOUIN, M.; ABBADIE, L.; BAROT, S. Plant preference for ammonium versus nitrate: A neglected determinant of ecosystem functioning? **The American Naturalist**, Chicago, v. 180, p.60-69, 2012.

BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. Ecological significance and complexity of N-sources preference in plants. **Annals of Botany**, Oxford, v. 112, p. 957-963, 2013.

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

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

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

CERRI, C.E.P.; GALDOS, M.V.; CARVALHO, J.L.N.; FEIGL, B.J.; CERRI, C.C. Quantifying soil carbon stocks and greenhouse gas fluxes in the sugarcane agrosystem: point of view. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 70, p. 361-368, 2013.

CONAB (2016) Companhia nacional de abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: Cana-de-açúcar**. Safra 2016/17. Primeiro levantamento. Abril de 2016. Monitoramento Agrícola. Brasília, 2016. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_04_18_14_27_15_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_16. Acesso em: 04 de agosto de 2016.

COSTA, M.C.G.; VITTI, G.C.; CANTARELLA, H. Volatilização de N-NH₃ de fontes nitrogenadas em cana-de-açúcar colhida sem despalha a fogo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 631–637, 2013.

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

FERREIRA, D.A.; FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; VITTI, R.; FORTES, C.; FARONI, C.E.; GARSIDE, A.L.; TRIVELIN, P.C.O. Contribution of N from green harvest residues for sugarcane nutrition in Brazil. **Global Change Biology Bioenergy**, Hoboken, v. 8, p. 859-866, 2016.

FORTES, C. **Produtividade de cana-de-açúcar em função da adubação nitrogenada e da decomposição da palhada em ciclos consecutivos**. 2010. 153 p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, E.C.A.; TRIVELIN, P.C.O. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 28, p. 29-41, 2011.

FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; VITTI, A.C.; FARONI, C.E.; OLIVEIRA, E.C.A.; FORTES, C.; FERREIRA, D.A.; KÖLLN, O.T.; GARSIDE, A.L.; TRIVELIN, P.C.O. Residual recovery and yield performance of nitrogen fertilizer applied at sugarcane planting. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 72, p. 528-534, 2015.

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

GOLDEMBERG, J. Ethanol for a sustainable energy future. **Science**, New York, v. 315, p. 808-810, 2007.

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

GOYAL, S.S.; LORENZ, O.A.; HUFFAKER, R.C. Inhibitory effects of ammoniacal nitrogen on growth radish plants. I. Characterization of toxic effects of NH₄⁺ on growth and its alleviation by NO₃⁻. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 107, p. 125-129, 1982.

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

HELALI, S.M.; NEBLI, H.; KADDOUR, R.; MAHMOUDI, H.; LACHAÂL, M.; OUERGHI, Z. Influence of nitrate – ammonium ratio on growth and nutrition of *Arabidopsis thaliana*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 336, p. 65-74, 2010.

HUANG, H.B.; LONG, S.; SINGH, V. Techno-economic analysis of biodiesel and ethanol co-production from lipid-producing sugarcane. **Biofuels Bioproducts & Biorefining**, Hoboken, v. 10, p. 299-315, 2016.

KRONZUCKER, H.J.; SZCZERBA, M.W.; BRITTO, D.T. Cytosolic potassium homeostasis revisited: ^{42}K -tracer analysis in *Hordeum vulgare* L. reveals set-point variations in $[\text{K}^+]$. **Planta**, New York, v. 217, p. 540-546, 2003.

LONG, S.P.; KARP, A.; BUCKERIDGE, M.S.; DAVIS, S.C.; JAISWAL, D.; MORE, P.H.; MOOSE, S.P.; MURPHY, D.J.; ONWONA-AGYEMAN, S.; VONSHAK, A. Feedstocks for biofuels and bioenergy. In: SOUZA, G.M.; VICTORIA, R.L.; JOLY, C.A.; VERDADE, L.M. (Eds), **Bioenergy & sustainability: Bridging the gaps**. SCOPE, Paris. p. 302–347, 2015. Disponível em: <http://bioenfapesp.org/scopebioenergy/index.php> (acesso em 12 de Julho de 2016).

MARIANO, E. **Predição da necessidade de fertilizante nitrogenado pela cana-de-açúcar e reações do nitrogênio orgânico e mineral dissolvidos em palha e solo de canaviais**. 2015. 146 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

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

MARIANO, E.; TRIVELIN, P.C.O.; VIEIRA, M.X.; LEITE, J.M.; OTTO, R.; FRANCO, H.C.J. Ammonia losses estimated by an open collector from urea applied to sugarcane straw. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, p. 411-419, 2012.

MARIANO, E.; LEITE, J.M.; VIEIRA-MEGDA, M.X.; CIAMPITTI, I.A.; VITTI, A.C.; FARONI, C.E.; FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O. Biomass and nutrient content as sugarcane as affected by fertilizer nitrogen sources, **Crop Science**, Madison, v. 56, p. 1234-1244, 2016.

NÄSHOLM, T.; KIELLAND, K.; GANETEG, U. Uptake of organic nitrogen by plants. **New Phytologist**, Oxford, v. 182, p. 31-48, 2009.

ORLANDO FILHO, J.; RODELLA, A.A.; BELTRAME, J.Á.; LAVORENTI, N.A. Doses, fontes e formas de aplicação de nitrogênio em cana-de-açúcar. **STAB - Açúcar Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 17, p. 39–41, 1999.

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

OTTO, R.; CASTRO, S.A.Q.; MARIANO, E.; CASTRO, S.G.Q.; FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O. Nitrogen Use Efficiency for Sugarcane-Biofuel Production: What Is Next? **Bioenergy Research**, New York, [online], p. 1-18, 2016.

PRADO, R.M.; PANCELLI, M. Resposta de soqueiras de cana-de-açúcar em sistema de colheita sem queima à aplicação de nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v. 67, p. 951-959, 2008.

ROBINSON, N.; BRACKIN, R.; VINALL, K.; SOPER, F.; HOLST, J.; GAMAGE, H.; PAUNGFOO-LONHIENNE, C.; RENNENBERG, H.; LAKSHMANAN, P.; SCHMIDT, S. Nitrate paradigm does not hold up for sugarcane. **Plos One**, São Francisco, v. 6, p. e19045, 2011.

ROCHA, G.J.M.; GONÇALVES, A.R.; OLIVEIRA, B.R.; OLIVARES, E.G.; ROSSELL, C.E.V. Steam explosion pretreatment reproduction and alkaline delignification reactions performed on a pilot scale with sugarcane bagasse for bioethanol production. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 35, p. 274-279, 2012.

ROSSETTO, R.; DIAS, F.L.F.; LANDELL, M.G.A.; CANTARELLA, H.; TAVARES, S.; VITTI, A.C.; PERECIN, D. N and K fertilization of sugarcane ratoons harvested without burning, **Proceedings International Society of Sugar Cane Technologists**, Veracruz, v. 27, p. 1-8, 2010.

SILVA-OLAYA, A.M.; CERRI, C.E.P.; SCALA Jr., N.L.; DIAS, C.T.S.; CERRI, C.C. Carbon dioxide emissions under different soil tillage systems in the cultivation of 25 mechanically harvested sugarcane. **Environmental Research Letters**, Cambridge, v. 8, p. 015014, 2013.

TEN HOOPEN, F.; CUIN, T.A.; PEDAS, P.P.; HEGELUND, J.N.; SHABALA, S.; SCHJOERRING, J.K.; JAHN, T.P. Competition between uptake of ammonium and potassium in barley and *Arabidopsis* roots: molecular mechanisms and physiological consequences. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, p. 2303-2315, 2010.

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

URQUIAGA, S.; XAVIER, R.P.; MORAIS, R.F.; BATISTA, R.B.; SCHULTZ, N.; LEITE, J.M.; SÁ, J.M.; BARBOSA, K.P.; RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. Evidence from field nitrogen balance and ¹⁵N natural abundance data for the contribution of biological N₂ fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 356, p. 5-21, 2012.

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

VINALL, K.; SCHMIDT, S.; BRACKIN, R.; LAKSHMANAN, P.; ROBINSON, N. Amino acids are a nitrogen source for sugarcane. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 39, p. 503-511, 2012.

VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; PENATTI, C.P.; BOLOGNA, I.R.; FARONI, C.E.; FRANCO, H.C.J. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada ao nitrogênio residual da adubação e do sistema radicular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, p. 249-256, 2007.

WALCH-LIU; P.; NEUMANN, G.; FRITZ, B.; ENGELS, C. Rapid effect of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 227-237, 2000.

ZHANG, J.; WANG, J.; MÜLLER, C.; CAI, Z. Ecological and practical significances of crop species preferential N uptake matching with soil N dynamics. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 103, p. 63-70, 2016.

2 MANEJO DO NITROGÊNIO EM LONGO PRAZO EM SOQUEIRAS DE CANA-DE-AÇÚCAR: EFEITOS NA PRODUTIVIDADE, PARÂMETROS TECNOLÓGICOS, ACÚMULO DE NUTRIENTES E ALTERAÇÕES NOS ATRIBUTOS DO SOLO

Resumo

Conhecer a influência da adubação nitrogenada em longo prazo é uma prática chave para melhorar o manejo de nutrientes e a produtividade da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito do manejo do N-fertilizante e dos ciclos de soqueira da cultura na produtividade, parâmetros tecnológicos, acúmulo de biomassa, acúmulo e balanço de nutrientes e nas alterações dos atributos químicos do solo. Dois experimentos de campo em solos tropicais altamente intemperizados (ambos Latossolo Vermelho-Amarelo distróficos) foram conduzidos na região central do estado de São Paulo. O manejo do N-fertilizante incluiu sete tratamentos: nitrato de amônio e ureia na dose de 100 kg ha⁻¹ de N (NA100 e UR100, respectivamente), nitrato de amônio e cálcio nas doses de 50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ de N (NAC50, NAC100, NAC150 e NAC200, respectivamente), além de um controle, sem aplicação de N-mineral. Foram avaliadas cinco soqueiras no local 1 e quatro soqueiras no local 2. Os tratamentos foram repetidos em anos subsequentes nas mesmas parcelas experimentais (parcelas estáticas). Os ciclos de soqueira da cana-de-açúcar influenciaram a maior parte das variáveis analisadas e revelaram tendência de aumento na produtividade de colmos ao longo dos anos de cultivo. A produtividade de colmos e de açúcar não respondeu ao manejo do N-fertilizante no local 1, apresentando produtividade média de 103 e 15,5 Mg ha⁻¹, respectivamente; enquanto o NA100 aumentou a produtividade de colmos no local 2 (com média de 116 Mg ha⁻¹ em quatro soqueiras). Ainda no local 2, o NAC100 aumentou o teor de brix e de açúcar total recuperável (ATR) do caldo em comparação com o controle, NAC50 e NAC200. No local 1, entretanto, o manejo do N-fertilizante não afetou os parâmetros tecnológicos, independente da safra. O maior acúmulo de biomassa foi obtido no tratamento NAC150, em ambos os locais. O acúmulo de N na parte aérea foi influenciado pelo manejo do N-fertilizante e variou de 143 a 175 kg ha⁻¹ no local 1 e de 150 a 213 kg ha⁻¹ no local 2, contudo tal fator não influenciou o acúmulo de P e de K no local 1. A manutenção da palha no campo resultou em balanço negativo de N e K quando até 50 e 100 kg ha⁻¹ de N ano⁻¹ foram aplicados nos locais 1 e 2, respectivamente. Entretanto, a simulação da remoção de palha do campo indicou déficit de N, P, K e S podem ocorrer no sistema solo-planta. O aumento da EUN através de uma escolha de manejo (por exemplo, NA100 e NAC100) poderia sustentar altas produtividades de cana-de-açúcar, com menor impacto no custo de produção.

Palavras-chave: *Saccharum* spp.; Fertilizantes nitrogenados; Doses de N; Nitrato de amônio e cálcio; Ureia; Nitrato de amônio; Balanço de nutrientes no solo

Abstract

Knowing the influence of nitrogen (N) fertilizers in the long term is a key management practice for improving nutrients management and yield for sugarcane

(*Saccharum* spp.). Therefore, this study aimed to evaluate the effect of fertilizer-N management and ratoon crop cycles in productivity, technological parameters, biomass accumulation, nutrient content, and soil nutrient balance. Two field trials under highly weathered tropical soils (Typic Hapludox) were performed in the state of São Paulo, Brazil. Seven fertilizer N managements [ammonium nitrate and urea at a rate of 100 kg ha⁻¹ N (AN100 and UR100, respectively), calcium ammonium nitrate at a rate of 50, 100, 150 and 200 kg N ha⁻¹ (CAN50, CAN100, CAN150 and CAN200, respectively), and a control, without N addition, were applied on sugarcane. Five and four ratoons were evaluated at Site 1 and 2, respectively. The N treatments were reapplied in subsequent years under the same experimental plots (static fertilization experiment). The sugarcane ratoons influenced most of the variables, and, overall, a yield increase was detected over the season crops. In terms of cane and sugar yield, sugarcane was non-responsive to the N fertilizer treatments at Site 1, with an average yield of 103 and 15.5 Mg ha⁻¹, respectively; whereas AN100 increased cane yield at Site 2 (with average of 116 Mg ha⁻¹ in four ratoon). At the same site (Site 2), CAN100 led to higher brix content and total recoverable sugar of juice than control, CAN50, and CAN200. At Site 1, however, N treatments did not influence any technological parameter, regardless of the season crop. The highest biomass accumulation was achieved by the CAN150 treatment, at both sites. The N content in the aboveground was influenced by fertilizer management with an average of 143 to 175 kg ha⁻¹ on Site 1 and 150 to 213 kg ha⁻¹ on Site 2. But, it didn't influence the P and K accumulation on Site 1. The straw maintenance in the field resulted in negative soil balance of N and K when up 50 and 100 kg N ha⁻¹ y⁻¹ were applied at Sites 1 and 2, respectively. However, the simulation of straw removal from field indicated that significant deficit of N, P, and K could occur in the soil-plant system. Increasing N use efficiency through fertilizer management choices (e.g., AN100 and CAN100) could sustain high sugarcane yields, with subsequent higher profit to growers.

Keywords: *Saccharum* spp.; N fertilizers; N rates; Calcium ammonium nitrate; Urea; Ammonium nitrate; Soil nutrient balance

2.1 Introdução

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, responsável pela produção de 690 milhões de toneladas, cerca de um terço da produção mundial, com uma área cultivada de mais de 9 milhões de hectares na safra 2015/2016, segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2016). Com a crescente demanda por energia renovável para mitigar as emissões de gases do efeito estufa (GEE), a tendência é que a produção de biocombustíveis aumente (GOLDEMBERG, 2007; ESCOBAR et al., 2009), com consequente ascensão na demanda de produção da cultura. Algumas projeções indicam aumento na área cultivada com cana-de-açúcar no Brasil que chegará a 11,5 milhões de hectares em

2024, com um aumento de produção para um valor estimado de 884 milhões de toneladas (OECD, 2015).

A região sudeste do Brasil produz aproximadamente 66% da cana-de-açúcar do país, sendo o estado de São Paulo responsável por 55% da produção nacional (CONAB, 2016). Nas últimas décadas o sistema de cultivo da cana-de-açúcar no estado passou por uma grande mudança no manejo, em que a colheita, anteriormente realizada manualmente após a queima dos canaviais, passou a ser feita mecanicamente sem despalha a fogo (“cana-crua”), a partir do ano de 1997. Isso ocorreu principalmente por força da legislação ambiental Brasileira para resolver os problemas de saúde pública, gerados pela emissão de partículas e aerossóis oriundos da queima da palha (CANÇADO et al., 2006; CRISTALE et al., 2012). Além disso, a queima da cana também emitia grande quantidade de gases, como monóxido de carbono (CO), metano (CH₄) e óxido nitroso (NO₂), contribuintes para o aumento do aquecimento global (IPCC, 1995). Otto et al. (2016) relataram que em 2006 cerca de 65 % da área cultivada com a cultura no estado de SP era colhida mediante a queima dos resíduos culturais, e que no ano de 2014 cerca de 85% da área com cana-de-açúcar no estado foi colhida mecanicamente sem despalha a fogo. Com esta mudança, os resíduos culturais (folhas e ponteiros) passaram a ser depositados continuamente sobre a superfície do solo. Estimativas indicaram que a deposição de resíduos culturais é da ordem de 10 a 20 Mg ha⁻¹ e que tal material contém elevada relação C/N (80 a 100:1) (FORTES; TRIVELIN; VITTI, 2012; TRIVELIN et al., 2013).

Os estudos avaliando os efeitos da manutenção da palha no campo revelaram que os resíduos vegetais da cultura trazem uma série de benefícios ao sistema, como redução na variabilidade espacial da temperatura e umidade do solo (CARDOSO et al., 2013); redução nas emissões dos GEE (CERRI et al., 2013); aumento nos teores de carbono (GALDOS; CERRI; CERRI, 2009) e de nutrientes no solo, podendo, em longo prazo aumentar a ciclagem dos mesmos pela mineralização dos resíduos culturais (FORTES; TRIVELIN; VITTI, 2012; FORTES et al., 2013; TRIVELIN et al., 2013; FRANCO et al., 2015). Por sua vez, a presença da palhada deixada em superfície traz algumas dificuldades, como: maior incidência de pragas, como a cigarrinha (*Mahanarva fimbriolata*) (RAVANELI et al., 2006; GUIMARÃES et al., 2008), atraso na germinação da cana durante o inverno, em regiões mais frias, afetando subsequentemente o rendimento da cultura (CAMPOS

et al., 2010), baixa taxa líquida de mineralização do N no período de um ano agrícola (TRIVELIN; VICTORIA; RODRIGUES, 1995; FERREIRA et al., 2016), imobilização do N aplicado em superfície devido à elevada relação C/N da palha (GAVA, 1999) e dificuldade na incorporação de fertilizantes ao solo (BIANCHINI et al., 2014).

A adubação nitrogenada se destaca como uma das práticas culturais mais estudadas na maioria das culturas, incluindo a cana-de-açúcar. Isso se deve ao fato desse nutriente ser o mais limitante para o perfilhamento, crescimento e desenvolvimento da cultura, além de representar um custo significativo na produção de canaviais (TRIVELIN, 2000; WIEDENFELD; ENCISO, 2008). Estudos relatam respostas no rendimento da cana-de-açúcar em respostas ao fornecimento de N (ORLANDO FILHO et al., 1999; ROSSETTO et al., 2010b; OTTO et al., 2013; FRANCO et al., 2015). O N é o segundo nutriente em ordem de extração pela cana-de-açúcar e influencia diretamente a necessidade nutricional dos demais nutrientes pela planta (OLIVEIRA, 2011; MARIANO et al., 2016). Somado a isto, os problemas relacionados ao manejo dos fertilizantes nitrogenados aplicados sobre a palha, principalmente devido às dificuldades encontradas na incorporação do N-fertilizante ao solo, aumentam a demanda de estudos na área, visando à obtenção de maior eficiência no uso dos fertilizantes nitrogenados, com consequente aumento na eficiência de produção da cultura e sustentabilidade do sistema de produção.

Apesar de o Brasil ser um dos países que utiliza menores quantidades de N, com doses entre 60 a 120 kg ha⁻¹ (SPIRONELLO et al., 1997), trabalhos revelaram baixa recuperação do fertilizante aplicado à cultura, como também acontece em outros países. Estudos mostram que independente da fonte nitrogenada, verifica-se que a recuperação do N-fertilizante pela cana-de-açúcar varia de 20 a 40% (MEYER et al., 2007; FRANCO et al., 2011; VIEIRA-MEGDA et al., 2015), sendo raros os trabalhos em que a cultura utiliza mais de 40% do N-fertilizante aplicado em uma safra agrícola (TRIVELIN; RODRIGUES; VICTORIA, 1996). A baixa recuperação do N-fertilizante se deve a complexa dinâmica de ciclagem desse nutriente, que sofre múltiplas transformações e apresenta elevada mobilidade no sistema solo-planta-atmosfera. As perdas do N-fertilizante podem atingir até 65% do total aplicado no sistema solo-cana (CHAPMAN; HAYSOM; SAFFIGNA, 1994) e ocorrem por meio das vias que incluem a lixiviação de nitrato, a volatilização da amônia (NH₃), o escoamento superficial (run off) e emissões gasosas através de conversão microbiana de amônio à nitrato, assim como, na redução do nitrato pelo processo

microbiológico de desnitrificação (RASIAH et al., 2003; THORBURN; MEIER; PROBERT, 2005).

A baixa eficiência de uso do N-fertilizante pela cana-de-açúcar ocorre, pois além das perdas, outras fontes de N podem contribuir para a nutrição e desenvolvimento da cultura. Dentre essas vias, pode-se ser citado: a mineralização da matéria orgânica do solo (FRANCO et al., 2011; VIEIRA-MEGDA et al., 2015; OTTO et al., 2016), a fixação biológica de N (URQUIAGA, CRUZ e BODDEY, 1992; URQUIAGA et al., 2012), a absorção e utilização de compostos orgânicos de baixo peso molecular, como aminoácidos (VINALL et al., 2012); a contribuição da mineralização de resíduos culturais para a nutrição da cana-de-açúcar (VITTI et al., 2007; TRIVELIN et al., 2013; FERREIRA et al., 2016), entre outros. Assim, muitos trabalhos realizados no Brasil não apresentam incremento no rendimento da cana-de-açúcar com a utilização de N, como mostrado em uma compilação de trabalhos, realizados por Otto et al. (2016). Os autores revelaram que 24% dos locais avaliados no Brasil, de um total de 45 experimentos, não foram responsivos ao N, e 51% dos locais foram apenas moderadamente responsivos ao N, com incremento de produtividade menores que 25% em comparação com o controle, com a utilização de N-fertilizante.

Apesar de alguns trabalhos não apresentarem incremento no rendimento da cultura com a aplicação de N, Franco et al. (2011) mostraram que os fertilizantes nitrogenados apresentam um papel importante nos estádios iniciais de desenvolvimento da cultura. Segundo esses autores, neste período a cana-de-açúcar pode utilizar até 40% e 70% do N-fertilizante, para cana planta e cana soca, respectivamente. Além disso, a não reposição do N ao sistema pode gerar déficit no balanço de nutrientes, quando a quantidade de nutrientes extraída pela colheita não for reposta ao solo. Isto pode resultar até mesmo no esgotamento de nutrientes do solo, colocando em risco a produção agrícola (HAILESLASSIE et al., 2005; COBO; DERCON; CADISCH, 2010). Dessa forma, a utilização de fertilizantes minerais é muito importante para a cana-de-açúcar.

Dentre as fontes de fertilizantes nitrogenados utilizadas na cana-de-açúcar, a ureia é uma das mais utilizadas, devido ao seu menor custo por unidade de N. Contudo esta fonte é a que mais sofre prejuízos no sistema de colheita da cana crua, uma vez que nesse sistema, sua aplicação na superfície do solo resulta em perdas consideráveis de N-NH_3 por volatilização (TRIVELIN et al., 2002; COSTA;

VITTI; CANTARELLA, 2003; CANTARELLA et al., 2008; MARIANO et al., 2012), podendo resultar em queda da produtividade do canavial e prejuízos ao agricultor. Além da ureia, outras fontes também utilizadas na cultura são o sulfato de amônio (SA) e nitrato de amônio (NA). Estes fertilizantes apresentam algumas desvantagens ou limitações, como maior custo e maior potencial de acidificação do solo para o SA, além de dificuldade na comercialização do NA em alguns países, incluindo o Brasil, devido à sua potencial utilização em materiais explosivos (MARIANO et al., 2016). Sendo assim, é fundamental o estudo de novas fontes de N, as quais possam aumentar a eficiência de utilização do N-fertilizante pela cana-de-açúcar. Um fertilizante relativamente novo no Brasil que vem sendo estudado em condições tropicais para a cana-de-açúcar é o nitrato de amônio e cálcio (NAC) (MARIANO et al., 2015; MARIANO et al., 2016). Este fertilizante é uma mistura de NA com dolomita finamente moída e possui menor capacidade de absorção de água do que o NA, melhor qualidade física (maior dureza dos grânulos) e não possui restrições legais para sua aquisição.

O maior problema na maioria dos trabalhos com adubação nitrogenada na cana-de-açúcar é que as avaliações da cultura ocorrem somente em uma ou duas safras agrícolas, sem levar em consideração a respostas nos ciclos agrícolas subsequentes, ou seja, sem considerar a resposta da adubação em longo prazo. Para melhor avaliação e entendimento da dinâmica do N-fertilizante no sistema solo-cana-de-açúcar há que se considerar também a utilização desses fertilizantes nitrogenados durante um longo prazo de estudo. Porém, são poucos os trabalhos de longa duração encontrados na literatura. Desse modo, objetivou-se com este estudo: i) avaliar a resposta da adubação nitrogenada na produtividade de colmos e de açúcar, e se existente, encontrar o manejo do N-fertilizante capaz de manter elevados os níveis de produtividade de soqueiras de cana-de-açúcar, após quatro ou cinco anos de cultivo; ii) avaliar a influência da adubação nitrogenada nos parâmetros tecnológicos, acúmulo de biomassa e de macronutrientes no sistema de cultivo da cana-de-açúcar; iii) avaliar o balanço de macronutrientes no sistema de cultivo, considerando a influência da manutenção ou remoção da palha do solo; iv) avaliar qual manejo do N-fertilizante será responsável pelas maiores alterações nos atributos químicos do solo após vários anos de cultivo.

2.2 Material e métodos

2.2.1 Localização, delineamento experimental e condução dos experimentos

Com o intuito de avaliar a resposta em longo prazo de soqueiras de cana-de-açúcar à adubação nitrogenada, foram conduzidos durante os anos de 2010 a 2015, dois experimentos em áreas comerciais de cultivo de cana-de-açúcar, pertencentes à Usina São José da Estiva, localizada na região Central do Estado de São Paulo, no município de Novo Horizonte (Figura 2.1). O clima predominante da região é caracterizado como tropical com estação seca, (clima Aw, na classificação Köppen). A pluviosidade média anual é de 1349 mm e as temperaturas mensais variam de 26,3°C no verão a 19°C no inverno, com média anual de 23,3°C (CEPAGRI, 2016).

As áreas experimentais denominadas de local 1 (latitude Sul: 21° 30', longitude: 49° 18' Oeste, 432 m de altitude) e local 2 (latitude Sul: 21° 32' Sul, longitude: 49° 19' Oeste, 412 m de altitude) ficam distantes entre si cerca de 4 km e foram instaladas respectivamente em 2010 (após o corte da cana planta) e 2011 (após o corte da primeira soqueira). Ambas são utilizadas pela Usina como sendo ambiente de produção do tipo D/C, com potencial de produtividade de médio a médio/baixo, onde se esperava obter, na média de 4 cortes, produtividade de 80 a 90 t ha⁻¹ de colmos.

Figura 2.1 – Localização das áreas experimentais envolvendo o manejo do N-fertilizante em soqueiras de cana-de-açúcar, no município de Novo Horizonte, SP.

Os solos dos dois locais são classificados como Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico – LVAd (EMBRAPA, 2013), referente ao Typic Hapludox segundo classificação americana (SOIL SURVEY STAFF, 2014). Foram realizadas, nos dois locais experimentais, amostragens do solo para caracterização de seus atributos físicos e químicos (Tabela 2.1). Amostras indeformadas foram coletadas para determinação da densidade, pelo método do anel volumétrico (BLAKE; HARTGE, 1986) e amostras deformadas para análise química e granulométrica, pelo método do densímetro (GEE; BAUDER, 1986). Os valores de pH foram determinados com solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, na relação 1:2,5 (solo: solução – m/v) de acordo com Raij et al. (2001). A determinação do nitrogênio total do solo (NTS) ocorreu pelo método de digestão sulfúrica seguida de destilação e titulação para recuperação quantitativa do N-NH_4^+ . O carbono (C) orgânico foi determinado por oxidação com dicromato de potássio e determinado por titulometria. Os nutrientes: fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) foram extraídos por resina trocadora de íons e determinados por colorimetria (P), fotometria de chama (K) e absorção atômica (Ca, Mg) (RAIJ et al., 2001). Para quantificação do enxofre (S) realizou-se extração com fosfato de cálcio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e determinação por turbidimetria (VITTI, 1989). A acidez potencial do solo (H+Al) foi determinada pelo método tampão SMP (SHOEMAKER; McLEAN; PRATT, 1961) enquanto a capacidade de troca de cátions (CTC) a pH 7,0 foi calculado pela soma de cátions trocáveis (K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+}) e conteúdo de H+Al. O valor da soma de bases (SB) foi obtido pela divisão da soma de bases de cátions trocáveis pela CTC e multiplicado por 100.

As variedades de cana-de-açúcar (híbridos interespecíficos complexos) utilizadas nos experimentos foram a SP91-1285 (local 1) e a CTC15 (local 2), ambas de maturação médio-tardia, com colheita recomendada entre julho a outubro. A variedade SP 91-1285 se caracteriza por apresentar médio teor de fibra (11-13%), sendo mais indicada para cultivo em ambientes de produção do tipo A/B/C. Por sua vez, a CTC15 é mais indicada para ambientes de produção mais restritivos (C/D/E), uma vez que é muito rústica, apresenta alta tolerância à seca, ótima brotação sob a palha (em cultivos mecanizados), alto teor de fibra (>13%) e elevada produtividade em todas as soqueiras, podendo vir a florescer dependendo das condições ambientais (CTC, 2007).

Tabela 2.1 – Caracterização química e física dos solos dos locais 1 e 2, ambos classificados como Latossolo Vermelho Amarelo distrófico (LVAd), nos primeiros 100 cm de profundidade, antes da instalação dos experimentos

Características do solo [†]	Camada (cm)				
	0-20	20-40	40-60	60-80	80-100
Local 1: implantação em 2010					
pH, CaCl ₂	4,5	4,2	4,1	4,1	4,1
N total do solo, g kg ⁻¹	0,6	0,5	-	-	-
C orgânico do solo, g dm ⁻³	8	7	5	5	3
P resina, mg dm ⁻³	13	20	6	4	3
K, mmol _c dm ⁻³	1,9	1,6	1,0	0,9	0,8
Ca, mmol _c dm ⁻³	11	6	5	3	3
Mg, mmol _c dm ⁻³	5	3	3	2	2
Al, mmol _c dm ⁻³	1	5	5	6	6
H+Al, mmol _c dm ⁻³	17	19	16	12	13
CTC, mmol _c dm ⁻³	35	30	24	18	19
Saturação de bases, %	52	37	34	33	29
Areia, g kg ⁻¹	747	719	692	686	684
Silte, g kg ⁻¹	51	29	30	37	38
Argila, g kg ⁻¹	202	252	278	276	278
Densidade do solo, kg m ⁻³	1560	1540	1480	1400	1400
Local 2: implantação em 2011					
pH, CaCl ₂	4,8	4,9	4,2	4,2	4,1
N total do solo, g kg ⁻¹	0,5	0,4	-	-	-
C orgânico do solo, g dm ⁻³	7	7	5	4	3
P resina, mg dm ⁻³	9	7	6	5	4
K, mmol _c dm ⁻³	2,5	1,0	0,5	0,4	0,5
Ca, mmol _c dm ⁻³	11	13	5	4	4
Mg, mmol _c dm ⁻³	4	4	3	2	2
Al, mmol _c dm ⁻³	1	1	3	6	4
H+Al, mmol _c dm ⁻³	13	10	15	15	11
CTC, mmol _c dm ⁻³	31	28	23	21	16
Saturação de bases, %	58	66	36	28	36
Areia, g kg ⁻¹	820	784	780	770	759
Silte, g kg ⁻¹	30	17	20	29	28
Argila, g kg ⁻¹	150	200	200	201	213
Densidade do solo, kg m ⁻³	1730	1720	1580	1500	1540

[†] CTC: capacidade de troca de cátion a pH 7,0. Densidade do solo: densidade aparente do solo (amostras coletadas 20 cm do centro da linha do sulco de semeadura). – dados não obtidos.

Os fatores de estudo nos dois locais experimentais foram o manejo do N-fertilizante e os ciclos de soqueira da cana-de-açúcar. Nos dois locais o manejo do fertilizante incluiu as fontes: ureia e nitrato de amônio na dose de 100 kg ha⁻¹ de N; nitrato de amônio e cálcio nas doses de 50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ de N; e um tratamento controle (sem aplicação de N mineral), conforme apresentado na Tabela 2.2. A dose de 100 kg ha⁻¹ de N é a quantidade normalmente aplicada nas soqueiras de cana-de-açúcar na região sudeste do estado de São Paulo. Os ciclos de cultivo da cana-de-açúcar foram de cinco soqueiras no local 1 (2010 a 2015) e quatro soqueiras no local 2 (2011 a 2015). Os tratamentos foram repetidos nos mesmos locais (parcelas estáticas), em todos os ciclos de soqueira. Desta forma, no local 1, o tratamento controle ficou sem receber adubação mineral de N por até cinco anos consecutivos.

Tabela 2.2 - Tratamentos utilizados nos locais experimentais 1 e 2: manejo do N-fertilizante incluindo fontes e doses de N

SIGLA	Manejo do N-fertilizante	% de N
CONTR0	Controle, 0 kg ka ⁻¹ de N	-
NA100	Nitrato de amônio, 100 kg ha ⁻¹ de N	32
UR100	Ureia, 100 kg ha ⁻¹ de N	45
NAC50	Nitrato de amônio e cálcio [#] , 50 kg ha ⁻¹ de N	27
NAC100	Nitrato de amônio e cálcio, 100 kg ha ⁻¹ de N	27
NAC150	Nitrato de amônio e cálcio, 150 kg ha ⁻¹ de N	27
NAC200	Nitrato de amônio e cálcio, 200 kg ha ⁻¹ de N	27

[#] YaraBela NitromagTM é o nome comercial do fertilizante utilizado, que se apresenta na forma sólida e possui, além de N, 4% de Ca e 2% de Mg proveniente da mistura do nitrato de amônio com a dolomita finamente moída.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições. Cada parcela possuía 180 m², constando de oito linhas de cana-de-açúcar (sulcos), com 15 m de comprimento, e espaçamento entre linhas de 1,5 m. As parcelas foram separadas entre si por carreador de 2 m de largura (Figura 2.2). Além do N também foram aplicados em todas as parcelas experimentais 33 kg ha⁻¹ de P₂O₅, ou 14,4 kg ha⁻¹ de P, nos dois locais, e 80 kg ha⁻¹ de K₂O ou 66,4 kg ha⁻¹ de K no local 1, e 67 kg ha⁻¹ de K₂O ou 55,6 kg ha⁻¹ de K no local 2. Os fertilizantes (N, P₂O₅ e K₂O) correspondentes a cada tratamento foram misturados em sacos plásticos e aplicados manualmente sobre a camada de palha ao lado da linha da soqueira, a uma distância aproximada de 20 cm do centro da linha de cana. Em

todas as safras, os tratamentos foram aplicados de 30 a 80 dias após a colheita da soqueira, sendo reaplicados na adubação de soqueira sempre na mesma parcela correspondente dos anos anteriores (parcelas estáticas). A duração dos ciclos das soqueiras, nos dois locais, foi de 319, 429, 361, 321 e 362 dias após o corte para a 1ª, 2ª, 3ª, 4ª e 5ª soqueiras, respectivamente.

Figura 2.2 – Imagem do Google Earth captadas em 2013, mostrando a disposição dos experimentos nos locais 1 e 2.

Durante a condução do experimento, após o corte do primeiro ciclo da soqueira no local 1 (safra 2010/11), verificou-se que o solo apresentava baixos níveis de fertilidade e foi realizada a correção com aplicação de calcário dolomítico a lanço, manualmente, no final do ano de 2011, na dose de 2 Mg ha^{-1} , nos dois locais. Após esta calagem foi implantado o experimento no local 2. Também, após o corte da quarta soqueira, nova necessidade de correção de solo foi detectada e em setembro de 2014 foi realizada nova calagem manual a lanço (2 Mg ha^{-1}), além de gessagem ($1,1 \text{ Mg ha}^{-1}$), nos dois experimentos.

O controle de plantas daninhas, conforme matologia encontrada, foi feito com o uso de herbicidas, enquanto o controle de pragas como a broca da cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*) e a cigarrinha (*Mahanarva* sp.) foi feito biologicamente utilizando-se o hemíptero *Cotesia flavipes* e o fungo *Metarhizium anisopliae*, respectivamente, conforme monitoramento e critérios utilizados pela Usina Estiva. A

Usina Estiva realizou a escarificação e o cultivo do solo no local 1, nos anos de 2012 e 2014. Esta operação não programada para ocorrer durante a condução do experimento pode ter favorecido a mineralização da matéria orgânica, devido à perturbação física do solo, que implicou em maior aeração, à medida que o revolvimento desagrega os complexos organo-minerais formados, reduzindo assim a proteção física da matéria orgânica e estimulando o ataque microbiano (ZINN; LAL; RESCK, 2005).

Os dados de precipitação pluvial e temperatura da região durante o período de condução dos experimentos foram obtidos da estação meteorológica da Usina Estiva, distante cerca de 20 km dos locais experimentais (Figura 2.3).

Figura 2.3 - Precipitação mensal, em mm e temperatura máxima e mínima mensal, em °C, no município de Novo Horizonte/SP, durante o período de desenvolvimento de cinco soqueiras de cana-de-açúcar (2010-2015).

2.2.2 Histórico das áreas experimentais

Antes da instalação dos experimentos nos locais de estudo, a cana-de-açúcar vinha sendo cultivada há pelo menos 10 anos no sistema de colheita de cana-crua em que há deposição dos resíduos vegetais da cultura (folhas e ponteiros) na superfície do solo. O histórico dos locais revela aplicação de vinhaça na dose média de $120 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, com valores entre $100 \text{ a } 190 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$. Informações mais

detalhadas podem ser encontradas no ANEXO A, juntamente com informações sobre o histórico da produção de colmos e variedade anterior à reforma do canavial.

A renovação do canavial nas duas áreas ocorreu no ano de 2009 e seguiu critérios de preparo de solo, correção de acidez e adubação da Usina Estiva. No local 1 foi feita a rotação da área com leguminosa antes da renovação do canavial. Após dessecação da cana-de-açúcar, em novembro de 2008, realizou-se a aplicação de calcário dolomítico a lanço (2 Mg ha^{-1}) e adubação com cerca de 70, 150 e 125 kg ha^{-1} de N, P_2O_5 e K_2O , respectivamente, para a implantação do sistema MEIOSI (método inter-rotacional ocorrendo simultaneamente), onde se utilizou a rotação com amendoim (*Arachis hypogaea*). As fontes utilizadas na adubação foram um fertilizante formulado (10-25-20) e o condicionador de solo Agrolmin®¹. Após a dessecação da leguminosa, para o plantio da cana-de-açúcar, foi utilizado mais 25 kg ha^{-1} de N e 70 kg ha^{-1} de P_2O_5 aplicados no sulco, sendo que o Agrolmin® foi novamente utilizado. Além disso, também foram aplicadas na entrelinha da cana $10,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ de torta de filtro e $4,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ de cinzas. (ANEXO B). Nessa área o experimento foi instalado após a colheita da cana-planta, com a aplicação dos tratamentos no 1º ciclo de soqueira, em outubro de 2010.

Para a renovação do canavial no local 2, em fevereiro de 2009, foram utilizados 2 Mg ha^{-1} de calcário dolomítico aplicados a lanço, $3,8 \text{ Mg ha}^{-1}$ de cinzas, 4 Mg ha^{-1} de torta de filtro, $0,4 \text{ Mg ha}^{-1}$ de rocha fosfática. Para o plantio da cana-de-açúcar, foram utilizados 250 L ha^{-1} de Agrolmin® e 18 e 72 kg ha^{-1} de N e P_2O_5 , respectivamente. Na adubação da primeira soqueira foram utilizados 995 L ha^{-1} do Ajifer®² L60 e 260 L ha^{-1} de Agrolmin® (ANEXO B). Nessa área o experimento foi instalado após o corte da primeira soqueira, com a aplicação dos tratamentos no 2º ciclo de soqueira, em novembro de 2011.

No local 1 o plantio da cana-de-açúcar utilizou a cultivar SP91-1285 e foi realizado em maio de 2009, após o cultivo em meiosi com amendoim enquanto no local 2, a cultivar CTC 15 foi plantada em março de 2009. Em ambos os locais experimentais o plantio foi feito em linhas (sulcos) espaçadas em 1,5 m e a colheita da cana-planta foi mecanizada.

¹ Agrolmin® Cana é um condicionador de solo com altos níveis de matéria orgânica líquida na forma de ácidos húmicos e fúlvicos, cuja composição apresenta: carbono orgânico total (3%), nitrogênio total (1,5%), óxido de potássio (1,5%), zinco (0,16%), boro (0,1%) e densidade de $1,05 \text{ g cm}^{-3}$.

² AJIFER® L-60 é um subproduto da fabricação de ácido glutâmico que apresenta na composição: nitrogênio total (6,0%), enxofre (3,0%) carbono orgânico total (3,0%), densidade: $1,16 \text{ g cm}^{-3}$.

2.2.3 Colheita mecânica e análise tecnológica

A produtividade final de colmos por hectare foi determinada mediante corte mecânico e pesagem da cana picada em caminhão de transbordo instrumentado contendo célula de carga do Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) (Apêndice B). A mesma ocorreu nos meses de julho (1ª, 4ª e 5ª soqueiras) e de setembro (2ª e 3ª soqueiras). Foram colhidas quatro linhas por parcela (do total de oito), totalizando 60 metros lineares por parcela. Os resultados de cada parcela foram extrapolados para um hectare, considerando-se existir 6.667 metros de sulco de cana por hectare.

Antes da colheita foram separadas amostras de 10 colmos por parcela para avaliação dos parâmetros tecnológicos: Brix (%), Pureza (%), Fibra (%), Pol da cana (%), Açúcares Redutores (AR %) e Açúcar Total Recuperável (ATR, em kg Mg⁻¹), segundo metodologia de Fernandes (2003). Multiplicando-se a produtividade de colmos pela concentração de sacarose (Pol % cana) e dividindo este resultado por 100 obteve-se a produtividade de açúcar, expressa em Mg ha⁻¹, correspondente a cada parcela.

2.2.4 Avaliação da palha residual

Após o corte de cada soqueira da cana-de-açúcar mediante corte mecânico (primeira a quinta soqueiras no local 1 e segunda a quinta soqueiras no local 2), determinou-se a massa seca da palhada deixada no campo após a colheita, nos dois locais experimentais. Para isso, foram obtidas as massas frescas de 12 amostras de unidades amostrais de 1 m² (Apêndice B), coletadas aleatoriamente em cada um dos locais, que posteriormente constituíram amostras compostas de seis repetições. Essas foram levadas ao laboratório e secas em estufa com circulação de ar a 65°C para determinação da umidade. A partir da massa fresca total presente em 1m² e da umidade da palhada calculou-se a massa seca total presente em um hectare (10.000 m²). As amostras de palha residual foram moídas em moinho tipo Wiley e nelas feitas as determinações de concentrações de macronutrientes. Com o teor de nutrientes e massa seca da palhada também foi calculada a quantidade total de nutrientes (kg ha⁻¹) deixados na área após os cortes.

2.2.5 Produção de biomassa seca e acúmulo de macronutrientes

Em todos os ciclos de soqueiras avaliados nos dois locais foram realizadas avaliações biométricas para estimar a produção de biomassa seca e o acúmulo de macronutrientes nos compartimentos da cana-de-açúcar (ANEXO C). Para tanto, em cada parcela foram colhidos e separados todo material vegetal da parte aérea (folha seca, ponteiro e colmo) presentes em 2 metros de sulco. Todo material vegetal foi pesado, em balança eletrônica para a obtenção da massa fresca de cada compartimento vegetal. Este peso foi dividido pelo número de colmos existente nos 2 metros de sulco avaliados, para determinação da massa fresca média de 1 (um) perfilho. No mesmo dia em que foram realizadas as avaliações de biometria, realizou-se a quantificação da densidade de colmos, sendo que apenas colmos comercialmente viáveis foram considerados na contagem. Os colmos viáveis em 15 metros de soqueira em cada parcela (três segmentos de 5 metros) foram contabilizados para se calcular o número médio de colmos viáveis por hectare (considerando o espaçamento de 1,5 m entre sulcos, onde, então, 1 hectare possui 6.667 m de sulcos). Multiplicando-se o número médio de colmos por hectare pela massa média de um perfilho, obteve-se a produção de biomassa fresca de cada compartimento, em hectare.

Também foram coletados os colmos subterrâneos presentes em 1 (um) metro de sulco da linha da cana. Os colmos subterrâneos foram previamente separados das raízes e do solo no campo com auxílio de facão e armazenados em sacos plásticos identificados, sendo mantidos congelados para posterior lavagem, limpeza, secagem e pesagem das amostras. A lavagem foi feita com bomba de pressão para retirar o excesso de terra. Depois os colmos subterrâneos foram limpos em esmerilhadora de bancada para remoção das raízes e colocados para secar em estufa ventilada de ar à 65°C até estabilização da massa seca. A quantidade de colmos subterrâneos foi extrapolada a partir da massa seca obtida em 1 m de sulco, considerando-se haver 6.667 m de sulcos em 1 (um) hectare.

Subamostras dos compartimentos da planta: folha seca, ponteiro e colmo de cada parcela foram coletados para determinação da umidade, sendo armazenadas em sacos plásticos fechados para evitar a perda de água. Os ponteiros e colmos foram triturados em picadora de cana para coleta das subamostras. No laboratório as subamostras de cada compartimento foram pesadas em balança analítica para

obtenção da massa fresca (com umidade natural), sendo posteriormente secas em estufa ventilada a 65°C. Os colmos permaneceram na estufa por até 15 dias (360 horas) para completa remoção da água. Após secagem, as amostras foram novamente pesadas para determinação da massa seca e determinou-se a umidade de cada compartimento da cana-de-açúcar em cada parcela experimental. Descontando-se a umidade da biomassa fresca determinou-se a biomassa seca de colmo, ponteiro, folha seca, colmos subterrâneos e parte aérea das plantas (Apêndice A).

Após secagem, as subamostras de colmo, ponteiro, folha seca e colmos subterrâneos foram moídas em moinho tipo Wiley, acondicionadas em frasco plástico cristal (J30) e encaminhada para determinação de macronutrientes, segundo metodologia descrita por Malavolta, Vitti e Oliveira (1997). O extrato para determinação do teor de nitrogênio total foi obtido via digestão sulfúrica, a partir do qual foi determinado o N pelo método analítico semi-micro-Kjeldahl. O extrato para determinação dos demais macronutrientes foi obtido por digestão nítrico-perclórica, a partir do qual foi determinado o P pelo método de colorimetria do metavanadato; Ca e Mg por espectrofotometria de absorção atômica; K por fotometria de chama de emissão; e S pelo método da turbidimetria do cloreto de bário.

As quantidades de nutrientes acumuladas nos compartimentos vegetais foram calculadas pela multiplicação da concentração do nutriente pelo acúmulo de biomassa seca em cada compartimento da planta. Os valores dos compartimentos do colmo, folha seca e parte aérea foram somados para a obtenção do acúmulo total de nutrientes na parte aérea.

2.2.6 Balanço parcial de macronutrientes

O balanço parcial de macronutrientes no sistema solo-planta ao longo dos ciclos de cultivo, em cada local experimental, foi realizado de forma simplificada, pela diferença entre as entradas de nutrientes via fertilizantes ou corretivos de solo, e suas respectivas saída de produtos colhidos ou de resíduos culturais removidos (COBO et al., 2009) assim como também realizado por Singh et al. (2007) para cana-de-açúcar. Foram consideradas as saídas e entradas de um total de cinco anos (cinco soqueiras) no local 1 e quatro anos (quatro soqueiras) no local 2. As entradas de nutrientes incluíram as aplicações de fertilizantes, calcário e gesso. As

entradas de N variaram para os tratamentos em função da dose utilizada (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹) e do número de soqueiras avaliadas nos locais (cinco soqueiras no local 1 e quatro no local 2). Para os nutrientes P, K e S, as entradas foram de 75, 332 e 181 kg ha⁻¹, respectivamente no local 1, e de 60, 222 e 181 kg ha⁻¹, respectivamente no local 2, sendo iguais para todos os tratamentos. Já os nutrientes Ca e Mg, assim como o N, variaram entre os tratamentos: de 1094 a 1134 kg ha⁻¹ de Ca e 494 a 514 kg ha⁻¹ de Mg no local 1 e de 1089 a 1121 kg ha⁻¹ de Ca e de 494 a 514 kg ha⁻¹ de Mg no local 2 em função da presença da dolomita no fertilizante NAC. A palhada presente não foi considerada como entrada de nutrientes, uma vez que seus nutrientes permaneceram no sistema solo-planta. Neste caso, como saída considerou-se a exportação de nutrientes pela remoção dos colmos. Para efeito de comparação, também foi feita uma simulação do balanço parcial de macronutrientes considerando a remoção da palhada do local, onde a extração de nutrientes da parte aérea (colmo + folha seca + ponteiro) foi considerada como saída de nutrientes do sistema com remoção de palha.

2.2.7 Amostragem para fins de caracterização da fertilidade do solo

Após a colheita de cada ciclo de soqueira foram realizadas amostragens de solo para fins de caracterização química da fertilidade, em duas camadas (0-20 e 20-40 cm), coletando-se amostras compostas de solo em todas as parcelas, nos dois locais experimentais. Sondas amostradoras de solo foram utilizadas nessas amostragens. Em cada parcela foram amostradas as quatro linhas centrais (quatro pontos), que após homogeneização deram origem a uma amostra composta. O solo foi amostrado a aproximadamente 20 cm do sulco de plantio da cana, na mesma posição onde foram aplicados os fertilizantes. As análises de fertilidade do solo foram realizadas conforme descrito por Raij et al. (2001) e já descritas no item 2.2.1. Para a realização da análise estatística e interpretação, os resultados englobaram as duas profundidades de solo analisadas, e, portanto, serão apresentadas considerando a camada de 0-40 cm de profundidade.

2.2.8 Análise estatística

Os resultados foram comparados qualitativamente, considerando-se dois fatores de estudo: o manejo do N-fertilizante, que incluiu sete tratamentos compostos por fontes e doses de N; e os ciclos de soqueiras da cana-de-açúcar, que totalizaram cinco soqueiras no local 1 e quatro soqueiras no local 2. Os locais foram avaliados individualmente, pois havia defasagem no tempo entre colheitas das soqueiras, uma vez que o local 1 foi implantado um ano antes do local 2. Em adendo, as variedades de cana-de-açúcar eram diferentes nos dois locais. O balanço parcial de macronutrientes não considerou a manutenção ou remoção da palha como um fator de avaliação, considerando apenas o manejo do N-fertilizante em cada local. A análise de variância ($p \leq 0,05$) foi realizada utilizando o procedimento PROC GLM do programa estatístico SAS (versão 9.0, SAS Institute Inc. Cary, NC). Nos casos em que o teste F foi significativo realizou-se a análise de comparação de médias utilizando-se o Teste t (LSD) ($p \leq 0,05$).

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Condições ambientais

Em ambos locais, o ciclo de crescimento das soqueiras de cana-de-açúcar foi de 10,5 meses na primeira (safra 2010/2011) e quarta soqueiras (safra 2013/2014), 12 meses na terceira (safra 2012/2013) e quinta soqueiras (safra 2014/2015) e de 14 meses na segunda soqueira (safra 2011/2012). A precipitação acumulada nessas safras foi de 1844 mm (1ª soqueira), 1355 mm (2ª soqueira), 1567 mm (3ª soqueira), 1214 mm (4ª soqueira) e 1491 mm (5ª soqueira) (Figura 2.3). Com exceção para a quarta soqueira, em todos os demais ciclos agrícolas de cultivo da cana-de-açúcar a precipitação foi mais elevada que a média anual histórica dos últimos 40 anos da região, de 1349 mm. Durante a condução da quarta soqueira houve um período de seca agravado na estação do verão, em todo o estado de São Paulo (COELHO et al., 2016), que prejudicou a produtividade de muitos canaviais da região. Contudo, apesar do menor volume hídrico neste ano (Figura 2.3), a produção de colmos e de açúcar nos locais experimentais não foi prejudicada, como evidenciam os resultados

que serão apresentados a seguir. Isto pode ser explicado pela distribuição regular das chuvas na fase inicial de desenvolvimento da cultura, uma vez que restrições hídricas na fase de desenvolvimento vegetativo limitam o crescimento dos colmos, provocando também redução da produtividade da cultura (ABREU et al., 2013). A temperatura média do ar em cada período do ciclo de cultivo variou de 23,2°C (no terceiro ciclo de cultivo) a 23,9°C (no 5ª ciclo de cultivo), ficando próximas as temperaturas médias anuais de 23,3°C. No primeiro ciclo de soqueira a temperatura máxima do ar variou de 16,1 a 37,1°C e a temperatura mínima do ar de 5,9 a 23,4°C. Na segunda, terceira, quarta e quinta soqueiras, essas variações foram respectivamente, de: 5,0 a 25,2°C; 6,0 a 25,0°C; 10,5 a 24,6°C e 12,8 a 27,0°C para a temperatura mínima do ar, e de 16,6 a 37,0°C, 11,4 a 39,0°C, 16,7 a 36,5°C e de 18,6 a 39,7°C para a temperatura máxima do ar (Figura 2.3).

2.3.2 Produtividade de colmos e de açúcar

Não houve interação entre o manejo do N-fertilizante e os ciclos de soqueiras da cana-de-açúcar na produtividade de colmos e de açúcar em nenhum dos locais. Tais variáveis foram, contudo, influenciadas pelos ciclos agrícolas de soqueiras nos dois locais (Figura 2.4; ANEXOS D e E). No local 1 houve incremento sucessivo na produtividade de colmos ao longo das soqueiras, na seguinte ordem crescente: 1ª < 2ª < 3ª < 4ª soqueira. Na 5ª soqueira a produtividade de colmos foi igual à 2ª (Figura 2.4 A). No local 2, por sua vez, a maior produtividade também ocorreu no quarto ciclo de soqueira e a menor, no quinto (Figura 2.4 B). Teoricamente, a capacidade fotossintética de sucessivas folhas mais jovens completamente expandidas torna-se progressivamente menor com o envelhecimento da colheita (HARTT; BURR, 1967; HEERDEN et al., 2010). Assim, a produtividade de colmos tende a cair ao longo das safras, à medida que há diminuição do vigor vegetativo das soqueiras e aumento na incidência de pragas e doenças, provocando falhas na brotação do canavial e redução no crescimento das plantas, conforme Stolf, Iaia e Lee (1986). Segundo estes autores, a diminuição da produtividade com o aumento na porcentagem de falhas é linear até valores em torno de 55% de falhas, sendo que um aumento de 10% de falhas provocaria queda de 3,2 % no rendimento agrícola da cultura. Além disso, a colheita mecanizada pode aumentar a compactação do solo ao longo dos ciclos de cultivo (VISCHI FILHO et al., 2015), podendo também influenciar

negativamente na brotação das soqueiras. Apesar disso, ao contrário do esperado, a produtividade de colmos não diminuiu ao longo dos anos, ocorrendo aumento, em ambos os locais (Figura 2.4).

Figura 2.4 – Efeito dos fatores principais manejo do N-fertilizante (M) e soqueiras da cana-de-açúcar (S) na produtividade de colmos (A, B) e de açúcar (C, D) e na densidade de colmos (E, F), em dois experimentos de campo. As barras verticais representam o erro padrão da média ($n = 28$ para M e $n = 20$ e $n = 16$ para S nos locais 1 e 2, respectivamente). Os valores de p da ANOVA para cada fator (M e S) e sua interação (M x S) são apresentados nos painéis. CONTR0= controle; NA100: nitrato de amônio (100 kg ha^{-1} de N); UR100: Ureia (100 kg ha^{-1} de N); NAC50, NAC100, NAC150 e NAC200: Nitrato de amônio e cálcio (50, 100, 150 e 200 kg ha^{-1} de N). Letras minúsculas distintas indicam diferenças para o manejo do N-fertilizante e letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre as soqueiras de cana-de-açúcar, ambos pelo teste t (LSD), com $p \leq 0,05$.

A maior produtividade de colmos foi obtida na safra 2013/2014 (4º ciclo de soqueira) (Figura 2.4 A, B), no ano com menor precipitação pluviométrica (Figura 2.3). Uma hipótese para explicar tal fato é que a precipitação bem distribuída ao longo do crescimento vegetativo inicial da cultura pode ter sido mais importante do que um maior volume hídrico mal distribuído. Soma-se a esse fato a manutenção da umidade do solo pela presença de palhada na superfície. Além disso, mesmo com o possível aumento de falhas no campo, que embora não tenha sido quantificado, foi percebido visualmente, a cana-de-açúcar possui capacidade de intensificar o perfilhamento estimulado pela maior insolação solar, compensando as falhas do canavial pelo número final de perfilhos (BEAUCLAIR; SCARPARI, 2006). Os resultados de densidade de colmos suportam esta hipótese, sendo que nos dois locais, a maior quantidade de colmos viáveis por metro ocorreu justamente no quarto ciclo de soqueira, ciclo este que apresentou a maior produtividade de colmos, comparado com as outras safras (Figura 2.4 E, F). Desta forma, o maior número de colmos viáveis por metro, provavelmente, suportou o incremento na produção de colmos ao longo dos ciclos das soqueiras.

A análise do fator principal manejo do N-fertilizante indica que as variáveis produtividades de colmo e de açúcar não foram influenciadas por tal fator no local 1, sendo, contudo, influenciadas no local 2 (Figura 2.4). Isto mostra que o local 1 não foi responsivo à adubação nitrogenada, uma vez que a utilização de N não promoveu incrementos de produtividade nas cinco soqueiras de cana-de-açúcar (Figura 2.4 A, C). No local 2, responsivo ao N, o efeito principal do manejo do N-fertilizante revelou que a produção de colmos e de açúcar do tratamento controle foi menor que nos demais tratamentos, inclusive se comparado a menor dose de N (NAC50) (Figura 2.4 B, D). Além disso, o NAC150 proporcionou a maior produtividade de colmos e de açúcar da cultura (com aumento de 23 e 3,6 Mg ha⁻¹ a mais que o controle, respectivamente), mas este tratamento foi semelhante ao NA100 e NAC200 para a produtividade de colmo (Figura 2.4 B) e ao NA100 e NAC100 para a produtividade de açúcar (Figura 2.4 D). Assim, o fornecimento do NA100 no local 2 se mostrou mais viável na busca do melhor rendimento da cana-de-açúcar.

Possivelmente no local 1 a mineralização da matéria orgânica do solo (MOS) foi suficiente para suprir toda demanda nutricional da planta pelo N. É comum encontrar locais de cultivo de cana-de-açúcar não responsivos a este nutriente,

apesar de sua importância no crescimento e desenvolvimento da planta. Otto et al. (2016) analisando e interpretando resultados de 45 experimentos com adubação nitrogenada em cana-de-açúcar no Brasil, relataram que 75% dos locais examinados eram não responsivos ou apenas moderadamente responsivos ao N. Muitos estudos com a cultura revelaram pequena contribuição dos fertilizantes para a nutrição da cultura, sendo a MOS a principal fonte de N para a cana-de-açúcar ao longo do ciclo fenológico (DOURADO NETO et al., 2010; FRANCO et al., 2011; VIEIRA-MEGDA et al., 2015; OTTO et al., 2016).

Embora os locais experimentais deste estudo tenham o mesmo tipo de solo, o histórico de manejo da área revelou diferenças entre eles. O local não responsivo ao N foi cultivado com amendoim na renovação do canavial e recebeu maior quantidade de fertilizante organomineral no plantio da cana-planta que o local 2, o que pode potencializar a liberação do N pela MOS ao longo do tempo. Além disso, no local 1, foi realizada escarificação do solo em dois anos, o que, provavelmente, também favoreceu a mineralização da MOS, devido à ruptura dos complexos organo-minerais formados, reduzindo, portanto, a proteção física da matéria orgânica, estimulando, assim, o ataque microbiano e a consequente mineralização líquida do N (ZINN; LAL; RESCK, 2005).

Em alguns casos, outras fontes de N podem contribuir para a não resposta da cana-de-açúcar à adubação nitrogenada encontrada neste e em muitos outros estudos. Dentre elas podem ser citadas: a fixação biológica de N (URQUIAGA, CRUZ e BODDEY, 1992; URQUIAGA et al., 2012), que trabalhos mais recentes assumem como efeitos benéficos na promoção de crescimento do sistema radicular (SEVILLA et al., 2001; VIDEIRA et al., 2012; SCHULTS et al., 2014), o efeito residual da adubação nitrogenada em anos anteriores (VITTI et al., 2007; FRANCO et al., 2011; FORTES; TRIVELIN; VITTI, 2012; FRANCO et al., 2015), a absorção de compostos orgânicos de baixo peso molecular, como aminoácidos (VINALL et al., 2012) ou a mineralização de resíduos culturais (NG KEE KWONG et al., 1987; TRIVELIN et al., 2013; FORTES et al., 2013; FERREIRA et al., 2016). No presente estudo, a deposição da massa seca de palha (folhas e ponteiros) no momento do corte das soqueiras variou de 12 a 21 Mg ha⁻¹ no local 1 e de 13 a 28 Mg ha⁻¹ no local 2, com adição de N ao solo de até 195 kg ha⁻¹ na quinta soqueira, no local 2. (Tabela 2.3). As diferenças nas quantidades de palha e de nutrientes entre as duas áreas estão associadas à utilização de variedades distintas. A quantidade de N

depositada no solo pela manutenção da palhada ficaram próximos aos citados por Franco et al. (2007), que relataram que a palhada pode conter de 80 a 200 kg ha⁻¹ de N, dependendo da variedade, produtividade, época de corte, entre outros fatores.

Tabela 2.3 - Produção de massa seca (MS) e acúmulo de nutrientes da palha residual (palhada) nos locais 1 e 2, após os cortes de cada ciclo de soqueira da cana-de-açúcar

Soqueira	MS Palhada	Acúmulo de Nutrientes (kg ha ⁻¹)					
		N	P	K	Ca	Mg	S
Local 1							
1 ^a	12 ± 1	-	-	-	-	-	-
2 ^a	15 ± 1	81 ± 3	6 ± 0,2	29 ± 5	46 ± 3	14 ± 1	10 ± 1
3 ^a	20 ± 1	124 ± 4	7 ± 0,5	27 ± 2	51 ± 2	17 ± 1	20 ± 1
4 ^a	18 ± 1	114 ± 6	4 ± 0,5	70 ± 2	54 ± 1	22 ± 1	24 ± 2
5 ^a	21 ± 2	143 ± 9	12 ± 1,0	37 ± 5	79 ± 4	22 ± 1	25 ± 1
Local 2							
2 ^a	13 ± 1	75 ± 4	5 ± 0,2	28 ± 3	36 ± 2	10 ± 1	12 ± 1
3 ^a	26 ± 1	161 ± 9	10 ± 0,5	42 ± 5	57 ± 2	23 ± 1	26 ± 2
4 ^a	25 ± 1	137 ± 5	6 ± 0,5	58 ± 9	63 ± 2	30 ± 2	40 ± 2
5 ^a	28 ± 3	195 ± 6	16 ± 0,8	61 ± 4	110 ± 3	37 ± 2	43 ± 4

- Dados não obtidos.

No presente estudo a quantidade de N presente na palha foi maior que a de K em todas as soqueiras. Isso ocorreu devido o tempo decorrido entre o corte da cana-soca e a amostragem de palha no local, que variou de 15 dias a 2 meses ao longo dos ciclos de soqueira (ANEXO C) . Com isso, chuvas ocorridas neste intervalo de tempo provavelmente removeram a maior parte do K presente na palha.

A palha da cana-de-açúcar possui aproximadamente 390 a 450 g kg⁻¹ de C e de 4,6 a 6,5 g kg⁻¹ de N, o que implica em alta relação C/N desse resíduo e, portanto, baixa mineralização líquida do N em 1 ano agrícola (RIPOLI et al., 1991; TRIVELIN; VICTORIA, RODRIGUES, 1995). Trabalhos indicaram que a recuperação pela planta do N de resíduos culturais (palha) é baixa e pode variar de 5 a 20% (NG KEE KWONG et al., 1987; JANZEN; KUCEY, 1988; GAVA et al., 2003; BOLOGNA-CAMPBELL, 2007; VITTI et al., 2011; FERREIRA et al., 2016). Por outro lado, a adição de N-fertilizante sobre a palha deve aumentar a decomposição da MOS como ocorre em outras plantas da família Poaceae (KATTERER et al., 1998).

Oliveira et al. (1999) verificaram que a aplicação de vinhaça combinada com ureia sobre a palhada da cana-de-açúcar não alterou a degradação da lignocelulose, assim como a liberação de nutrientes da mesma. Após manterem a

palhada recém-colhida por 18 meses no campo, os autores verificaram que a palhada remanescente tinha diminuído em 80, 30 e 50 % os teores de massa (hemicelulose e conteúdo celular), lignina e celulose, respectivamente. Os autores também quantificaram em 18, 67, 93, 57, 68 e 68 % a liberação dos nutrientes N, P, K, Ca, Mg e S, respectivamente durante o período. Fortes, Trivelin e Vitti (2012) relataram que a reciclagem do conteúdo de K é rápida e intensa (maior que 90%) quando o resíduo da cultura anterior é mantido no solo ou incorporados no campo após o plantio direto, contudo, nutrientes como N, Ca e Mg requerem a degradação do C para ser liberados para o sistema solo-planta, o que demanda maior tempo. Trivelin et al.(2013) em estudo de modelagem de liberação de N da palhada da cana-de-açúcar afirmaram que a manutenção dos resíduos culturais sobre o solo atingirá equilíbrio de ciclagem do nutriente somente após 40 anos, com recuperação de cerca de $40 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de N pela cultura. Os autores destacaram ainda que mesmo com o intuito de remoção da palhada do campo para geração de energia, é importante manter os ponteiros no solo para se buscar o equilíbrio na fertilidade, visto que eles são responsáveis pelo maior conteúdo de nutrientes da cana-de-açúcar.

Analisando os resultados de produtividade de colmo no local 2 é interessante observar que as respostas oriundas da utilização do NA100 e NAC100 foram estatisticamente iguais entre si nas soqueira de cana-de-açúcar, considerando-se o manejo do N-fertilizante (Figura 2.4 B). Contudo, a comparação desses tratamentos com o NAC150, tratamento que teve a maior produtividade, revelou que enquanto o NA100 não difere estatisticamente deste, o NAC100 apresenta menores rendimentos de colmo que o NAC150 (Figura 2.4 B). Ou seja, embora o NA100 e o NAC100 proporcionem a mesma produção de colmos, a resposta ao NA100 é igual à do NAC150, enquanto a do NAC100 é menor que o NAC150. Uma hipótese considerada para explicar tal fato é uma possível perda de NH_3 por volatilização no NAC, uma vez que este fertilizante é produzido a partir da mistura do NA com a dolomita. Isto porque a presença da dolomita poderia elevar o pH ao redor do grânulo, aumentando assim, as perdas de N por volatilização da amônia. Um ensaio avaliando a volatilização do NAC em condições de laboratório mostrou que as perdas acumuladas de N-NH_3 representaram apenas 0,3 % do total de N aplicado, com perdas iguais às do fertilizante NA, que é considerado um fertilizante estável (ANEXO F). Neste mesmo ensaio as perdas acumuladas de N-NH_3 para UR chegou

a 23,7 % do total de N aplicado. Isto indica que não houve perdas significativas de amônia pelo NAC em condições controladas de laboratório. Resultados de literatura mostram que estas perdas podem existir, contudo são baixas. Sommer e Ersboll (1996) relataram emissões relativas de NH_3 do NAC de menos de 5% em solos arenosos e argilosos, por meio de medições em câmaras dinâmicas com alta taxa de troca de ar. Também Ni, Pacholski e Kage (2014) relataram perdas de NH_3 oriundo do NAC aplicado em trigo variando de 0,2 a 7% em função da data de aplicação, com emissão média de 2,1% do N-aplicado quando uma dose de 70 kg ha^{-1} de N foi utilizada.

2.3.3 Análise tecnológica dos colmos

A análise estatística revelou que não houve interação entre manejo do N-fertilizante e as soqueiras da cana-de-açúcar para as variáveis da análise tecnológica: brix (%), pol (%), fibra (%) e ATR (kg Mg^{-1}) (Figura 2.5). Por sua vez, o fator principal ciclos de soqueira influenciou em todas as referidas variáveis, sendo que nos dois locais experimentais, a terceira soqueira da cana-de-açúcar (safra 2012/2013) apresentou o maior teor de brix, pol e ATR que as demais soqueiras, enquanto no segundo ciclo de soqueira (safra 2011/2012) os piores parâmetros foram obtidos (Figura 2.5). Embora as variedades fossem diferentes entre os locais, os resultados mostram que o fator climático é o principal fator a influenciar a análise tecnológica. Isto porque, independente das variedades utilizadas em cada local, as respostas entre as mesmas safras foram semelhantes. Para a obtenção de elevados teores de pol e ATR, por exemplo, é importante que haja um período com redução na pluviosidade e fotoperíodo, além de diminuição das temperaturas do ar, para que a cana-de-açúcar possa diminuir seu teor de umidade e aumentar o acúmulo de açúcar (INMAN-BAMBER; MUCHOW; ROBERTSON, 2002; ALLISON et al., 2007). O gráfico de pluviosidade (Figura 2.3) indica que justamente no terceiro ciclo de soqueira (safra 2012/2013) houve as menores precipitações no mês anterior à colheita da soqueira, comparado com as outras safras, o que provavelmente favoreceu as melhores respostas na análise tecnológica.

O fator principal manejo do N-fertilizante não influenciou nenhuma variável da análise tecnológica no local 1 (Figura 2.5 A, C, E, G), contudo afetou ($p \leq 0,05$) o teor de brix e ATR no local 2 (Figura 2.5 B, H). O maior teor de brix e quantidade de

Figura 2.5 – Efeito do manejo do N-fertilizante (M) e das soqueiras da cana-de-açúcar (S) nas variáveis da análise tecnológica: brix (A), pol (B), fibra (C) e ATR (D), em dois experimentos de campo. As barras verticais representam o erro padrão da média ($n=28$ para M e $n=20$ e $n=16$ para S nos locais 1 e 2, respectivamente). Os valores de p da ANOVA para cada fator (M e S) e sua interação (M x S) são apresentados nos painéis. Letras minúsculas distintas indicam diferenças para o manejo do N-fertilizante e letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os ciclos de soqueiras, ambos pelo teste t (LSD), com $p \leq 0,05$.

ATR foram obtidos com o NAC100, comparativamente ao tratamento não fertilizado (controle) e o que recebeu a maior dose de N (NAC200). Esses resultados indicam que a adubação nitrogenada pode favorecer o aumento na quantidade de pol e de açúcar até determinada dose de N, mas que doses muito elevadas podem estimular o crescimento vegetativo das plantas, depreciando a qualidade do caldo.

As demais variáveis da análise tecnológica: pureza e açúcar recuperável (AR), também não apresentaram respostas ao manejo do N-fertilizante, em nenhum dos locais experimentais, sendo influenciados apenas pelos ciclos de soqueiras da cana-de-açúcar. A pureza variou de 86,5 (2ª soqueira) a 88,8% (3ª soqueira) no local 1 e de 86,4 (2ª soqueira) a 89,1% (5ª soqueira) no local 2 (dados não apresentados).

Considerando que a cana-de-açúcar apresenta alta exigência por N seria esperado que houvesse efeito deste nutriente na qualidade da matéria prima da cana-de-açúcar. Contudo, resultados semelhantes aos do presente estudo, de não resposta na maioria das variáveis tecnológicas à adubação nitrogenada (fontes e doses de N) normalmente são relatadas em outros trabalhos com a cultura (FORTES, 2010; TRIVELIN et al., 2002; SINGH; LAL; SINGH, 2011; VIEIRA-MEGDA, 2013; BOLOGNA-CAMPBELL et al., 2013; LEITE, 2015). Quando existentes, as respostas à adubação nitrogenada podem causar muitas vezes depreciação na qualidade da matéria prima, como redução no teor de brix e pol (RESENDE et al., 2006), provavelmente devido ao maior crescimento vegetativo das plantas que pode aumentar a umidade do caldo (MUCHOW; ROBERTSON, 1994). Contudo, isto normalmente não afeta a produção de açúcar, pois o efeito da adubação nitrogenada é mais efetivo na produtividade de colmos do que nas variáveis tecnológicas (RESENDE et al., 2006; LEITE, 2016). Alguns estudos relataram também diminuição nos teores de fibra com a utilização de N, conforme Orlando Filho, Bittencourt e Alves (1995) e Tasso Júnior et al. (2007), o que não ocorreu no presente estudo. Segundo os autores, o N assume papel importante no aumento do comprimento de internódios e do colmo, fazendo com que a parede celular fique mais delgada e diminuindo a porcentagem de fibra na cana-de-açúcar.

Quando o N é absorvido em quantidades acima da necessidade metabólica imediata da planta, ocorre assimilação e armazenado deste nutriente na forma de aminoácidos, inclusive no caldo da cana (KEATING et al., 1999), dos quais a asparagina e a glutamina são as predominantes (CHAPMAN et al., 1996). Estes aminoácidos podem reagir com açúcares redutores durante o aquecimento do caldo

e formar corantes melanoidina, que levam a dificuldades a remoção da cor do açúcar e na comercialização do produto, por causa do aumento dos custos de refinação (GODSHALL, 1999; KINGSTON, 2014). Também por este motivo, muitas vezes o excesso de N pode ser prejudicial às características tecnológicas do caldo.

2.3.4 Acúmulo de biomassa seca nos compartimentos da cana-de-açúcar

No local 1 não houve interação entre o manejo do N-fertilizante e os ciclos de soqueiras da cana-de-açúcar para o acúmulo de biomassa seca nos compartimentos vegetais (Tabela 2.4). O manejo do N-fertilizante, por sua vez, influenciou o acúmulo de biomassa seca no colmo e parte aérea das plantas, não afetando os demais compartimentos vegetais: ponteiro, folha seca e colmos subterrâneos que apresentaram valores médios de 3,3, 7,9 e 1,3 Mg ha⁻¹, respectivamente (Tabela 2.4). O NAC150 aumentou em 2,2 a 4,0 Mg ha⁻¹ a biomassa seca do colmo e em 2,6 a 5,4 Mg ha⁻¹ a biomassa da parte aérea, comparativamente aos demais tratamentos. Embora o acúmulo de biomassa seca dos colmos no controle (21,2 Mg ha⁻¹) tenha sido igual aos tratamentos fertilizados, com única exceção para o NAC150, a quantidade total de biomassa seca da parte aérea produzida neste tratamento (31,5 Mg ha⁻¹) foi apenas semelhante à UR100 e NAC50, mas inferiores à NA100, NAC100, NAC150 e NAC200. Isso indica que, apesar do efeito do manejo do N-fertilizante ser pouco pronunciado nos compartimentos isolados da cana-de-açúcar (colmo, ponteiro e folha seca), essa diferença se tornou significativa quando a parte aérea total das plantas foi avaliada.

No local 2, por sua vez, apenas o acúmulo de biomassa seca no colmo e nas folhas secas foram influenciados pelo manejo do N-fertilizante (Tabela 2.4). Na folha seca o controle acumulou de 14 a 23% menos biomassa seca que os demais tratamentos fertilizados, não havendo, contudo, diferença entre os últimos. No caso dos colmos, o controle também apresentou menor acúmulo de biomassa seca comparativamente aos demais tratamentos, com apenas 22,6 Mg ha⁻¹. O maior acúmulo de biomassa no colmo foi obtido no NAC100 (28,7 Mg ha⁻¹), que não apresentou diferença, contudo, do NAC150 (28,5 Mg ha⁻¹) (Tabela 2.4). O manejo do N-fertilizante não influenciou na biomassa seca do ponteiro e colmos subterrâneos no local 2. Neste mesmo local, a produção de biomassa seca da parte aérea sofreu interação do manejo do N- fertilizante e dos ciclos de soqueira da cana-de-açúcar

Tabela 2.4 – Efeito do manejo do N-fertilizante e dos ciclos de soqueiras da cana-de-açúcar e sua interação, no acúmulo de biomassa seca do colmo, ponteiro, folha seca, parte aérea e colmos subterrâneos (C.S.) da cana-de-açúcar, nos locais 1 e 2

Fator	Colmo	Ponteiro	Folha seca Mg ha ⁻¹	Parte aérea	C.S.
Local 1					
Manejo (M)¹					
CONTR0	21,2 ± 0,1 b [†]	3,2 ± 0,1	7,2 ± 0,1	31,5 ± 0,2 c	1,6 ± 0,1
NA100	23,0 ± 0,4 b	3,3 ± 0,1	8,1 ± 0,2	34,3 ± 0,7 b	1,8 ± 0,1
UR100	22,8 ± 0,1 b	3,3 ± 0,1	7,4 ± 0,1	33,5 ± 0,1 bc	1,7 ± 0,1
NAC50	22,0 ± 0,3 b	3,1 ± 0,1	7,7 ± 0,1	32,8 ± 0,4 bc	1,7 ± 0,1
NAC100	22,5 ± 0,4 b	3,3 ± 0,1	8,4 ± 0,2	34,2 ± 0,6 b	1,7 ± 0,1
NAC150	25,2 ± 0,2 a	3,3 ± 0,1	8,3 ± 0,1	36,9 ± 0,2 a	1,9 ± 0,1
NAC200	22,7 ± 0,1 b	3,1 ± 0,1	8,1 ± 0,2	33,8 ± 0,2 b	1,7 ± 0,1
Soqueira (S)					
1 ^a	20,3 ± 0,7 C	2,7 ± 0,1 B	5,4 ± 0,3 D	28,4 ± 1,0 C	1,4 ± 0,1 C
2 ^a	24,1 ± 0,7 B	3,4 ± 0,1 A	8,7 ± 0,4 AB	36,2 ± 1,0 B	1,9 ± 0,1 AB
3 ^a	26,5 ± 0,4 A	3,7 ± 0,2 A	9,4 ± 0,3 A	39,6 ± 0,4 A	2,0 ± 0,1 A
4 ^a	23,1 ± 0,6 B	3,5 ± 0,1 A	8,5 ± 0,2 B	35,0 ± 0,7 B	1,9 ± 0,1 AB
5 ^a	19,8 ± 0,5 C	2,9 ± 0,1 B	7,4 ± 0,2 C	30,0 ± 0,6 C	1,6 ± 0,1 BC
Valor de p					
p M	0,005	0,878	0,081	0,005	0,910
p S	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p M x S	0,931	0,865	0,898	0,981	0,144
Local 2					
Manejo (M)					
CONTR0	22,6 ± 0,4 d	4,3 ± 0,1	8,8 ± 0,1 b	35,7 ± 0,4	2,1 ± 0,1
NA100	26,7 ± 0,3 c	4,1 ± 0,1	10,0 ± 0,1 a	40,7 ± 0,3	1,9 ± 0,1
UR100	26,8 ± 0,1 bc	4,3 ± 0,1	10,3 ± 0,1 a	41,4 ± 0,3	1,7 ± 0,1
NAC50	26,5 ± 0,2 c	4,2 ± 0,1	10,5 ± 0,1 a	41,2 ± 0,2	2,2 ± 0,1
NAC100	28,7 ± 0,3 a	4,2 ± 0,1	10,5 ± 0,1 a	43,4 ± 0,3	2,1 ± 0,1
NAC150	28,5 ± 0,2 ab	4,3 ± 0,1	10,8 ± 0,1 a	43,9 ± 0,3	2,1 ± 0,1
NAC200	26,1 ± 0,1 c	4,2 ± 0,1	10,4 ± 0,2 a	40,7 ± 0,3	2,1 ± 0,1
Soqueira (S)					
2 ^a	30,2 ± 0,6 A	5,0 ± 0,1 A	9,6 ± 0,2 B	45,0 ± 0,7	2,2 ± 0,1
3 ^a	28,0 ± 0,5 B	4,5 ± 0,2 B	11,2 ± 0,3 A	43,6 ± 0,7	2,0 ± 0,1
4 ^a	27,4 ± 0,6 B	3,4 ± 0,1 D	11,2 ± 0,3 A	42,0 ± 0,8	2,1 ± 0,1
5 ^a	20,5 ± 0,7 C	4,0 ± 0,1 C	8,8 ± 0,2 C	33,4 ± 0,8	1,9 ± 0,1
Valor de p					
p M	<0,001	0,974	<0,001	<0,001	0,275
p S	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,208
p M x S	0,075	0,090	0,700	0,043	0,379

¹ CONTR0= controle; NA100: nitrato de amônio (100 kg ha⁻¹ de N); UR100: Ureia (100 kg ha⁻¹ de N); NAC50, NAC100, NAC150 e NAC200: Nitrato de amônio e cálcio (50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ de N).

[†] Médias ± erro padrão das médias (n=20 no local 1 e n=16 no local 2 para M e n=28 nos dois locais para S). Letras minúsculas distintas indicam diferenças para o manejo do N-fertilizante e letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre as soqueiras de cana-de-açúcar, ambos pelo teste t (LSD), com p ≤ 0,05.

(Tabela 2.4). Na terceira, quarta e quinta soqueiras a quantidade de biomassa seca produzida pela parte aérea das plantas no controle foi inferior aos tratamentos fertilizados (Figura 2.6). Além disso, apesar das diferenças nas respostas entre as soqueiras, de modo geral pode-se observar nos resultados que o NAC100 e o NAC150 foram responsáveis pelo maior acúmulo de biomassa seca na parte aérea das plantas neste local, que variaram conforme o ciclo da soqueira (Figura 2.6). Houve tendência de redução na biomassa seca da parte aérea com o envelhecimento das soqueiras.

Figura 2.6 - Influência da interação do manejo do N-fertilizante e soqueiras de cana-de-açúcar no acúmulo de biomassa seca da parte aérea das plantas, no local 2. As barras verticais representam o erro padrão da média (n=4). CONTR0= controle; NA100: nitrato de amônio (100 kg ha⁻¹ de N); UR100: Ureia (100 kg ha⁻¹ de N); NAC50, NAC100, NAC150 e NAC200: Nitrato de amônio e cálcio (50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ de N). Letras minúsculas distintas indicam diferenças para o manejo do N-fertilizante dentro de cada soqueira e letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre as soqueiras dentro de cada manejo, ambos pelo teste t (LSD), com $p \leq 0,05$.

Nos dois locais experimentais o acúmulo de biomassa seca no colmo e na parte aérea das plantas de cana-de-açúcar foi menor no tratamento controle. Quando as condições de disponibilidade de água, radiação solar e de temperaturas são adequadas, o fator limitante ao desenvolvimento da cana-de-açúcar passa ser o fornecimento de nutrientes, que pode afetar o aumento no acúmulo de biomassa das plantas (DONALDSON et al., 2008; HEERDEN et al., 2010). Além disso, nota-se que os destaques no manejo do N-fertilizante foram o NAC100 e o NAC150. A obtenção de elevados rendimentos de biomassa na cultura requer entradas substanciais de

água e N (COSTA et al., 2016), e por isso era esperado que o incremento nas doses de N (NAC150) resultasse em maior acúmulo de biomassa seca das plantas. Franco et al. (2011) relataram aumento de 50% na produção de biomassa seca da parte aérea em plantas de cana-de-açúcar adubadas com 120 kg ha⁻¹ de N comparado com plantas não adubadas. Trivelin et al. (2002) cultivando cana-de-açúcar em vasos com 250 kg de solo arenoso (220 L), relataram resposta linear na produção de biomassa seca da parte aérea e subterrânea das plantas com o aumento das doses de N, que foram até 2.697,6 mg vaso⁻¹, ou 10,8 mg kg⁻¹ de solo. Contudo, é interessante destacar no presente estudo o desempenho do NAC100 no acúmulo de biomassa seca das plantas, uma vez que outras fontes de fertilizantes nitrogenados utilizados na mesma dose de N (UR100 e NA100) apresentaram-se inferior ao NAC100 para a conversão da energia da planta em produção de biomassa. Mariano et al. (2016) avaliando a influência de fontes de N (100 kg ha⁻¹) na produção de biomassa seca e acúmulo de nutrientes da cana-de-açúcar, relataram que o NAC aumentou o acúmulo de biomassa seca, em um dos dois locais avaliados, em comparação com algumas fontes (controle, fertilizante organomineral e cloreto de amônio). Os autores relacionaram este fato à presença de CaCO₃ e MgCO₃ no fertilizante NAC, que pode ter estimulado a mineralização da MOS pelo aumento do pH próximo do grânulo do fertilizante. Provavelmente, isto também pode ter ocorrido com o NAC neste estudo, fazendo com que este manejo possibilitasse respostas superiores aos demais manejos que utilizaram a mesma quantidade de N.

O fator ciclos de soqueira da cana-de-açúcar influenciou o acúmulo de biomassa seca em todos os compartimentos vegetais, nos dois locais (Tabela 2.4). Os maiores rendimentos de biomassa seca de colmo e da parte aérea das plantas foram obtidos na terceira soqueira no local 1 e na segunda soqueira no local 2. Essas diferenças podem estar relacionadas a características das variedades de cana-de-açúcar utilizadas em cada local, visto que as condições edafoclimáticas foram semelhantes.

É possível notar que as respostas entre a produtividade de colmo e o acúmulo de biomassa seca neste mesmo compartimento não apresentaram os mesmos padrões de resposta, em ambos os locais. Por exemplo, enquanto no local 1 o manejo do N-fertilizante não afetou a produtividade de colmos (Figura 2.4 A) indicando que o local 1 não foi responsivo ao N, o mesmo fator influenciou o acúmulo de biomassa seca do colmo (Tabela 2.4). Além disso, embora neste local a

maior produtividade de colmos tenha sido obtida na quarta soqueira (Figura 2.4 A), o maior acúmulo de biomassa seca do colmo ocorreu na terceira soqueira (Tabela 2.4). Isso pode ser explicado basicamente por dois motivos. O primeiro diz respeito à umidade do material vegetal, uma vez que a produtividade de colmos expressa à massa fresca obtida no momento do corte. Desta forma, a massa de material fresco pode ser alterada conforme as condições ambientais no momento da colheita da cana-de-açúcar. Na quarta soqueira, por exemplo, a colheita foi realizada três dias após uma chuva de 25 mm, o que pode ter aumentado a umidade e consequentemente, a massa fresca de colmo das plantas nessa safra. Além disso, Trivelin, Rodrigues e Victoria (1996) relataram que plantas de cana-de-açúcar, variedade SP70-1143, fertilizadas com 100 kg ha⁻¹ de N apresentaram maior umidade na parte aérea comparada com plantas sem adubação. Isso porque, segundo esses autores, o N estimularia o crescimento vegetal e a absorção de nutrientes como o Ca, que por sua vez, aumentaria a absorção de água. O segundo motivo está relacionado com o modo de avaliação e representatividade das amostragens. Na produtividade de colmos são colhidos mecanicamente em cada parcela 45 metros de sulcos de cana, enquanto na biometria, por questões logísticas e operacionais, apenas as plantas em 2 metros de sulcos são avaliadas. Certamente, maior representatividade é obtida quando maior quantidade de plantas são avaliadas, e os dados são normalizados quando se considera a massa seca do material vegetal. Contudo, cabe ressaltar que cada análise tem a sua peculiaridade, e enquanto a produtividade de colmos é utilizada principalmente para fins industriais, o acúmulo de biomassa seca é uma avaliação mais técnica, voltada principalmente para o estudo de extração e exportação de nutrientes pela cana-de-açúcar.

2.3.5 Acúmulo de N, P e K nos compartimentos vegetais

O manejo do N-fertilizante influenciou o acúmulo de N no colmo, folha seca e parte aérea das plantas no momento da colheita, nos dois locais experimentais. Em todos estes casos a não adição de N-fertilizante reduziu o acúmulo de N (Tabela 2.5). Por sua vez, o fornecimento de N aumentou o acúmulo do nutriente nos distintos compartimentos da planta, sendo que o NAC150 e NAC200 (local 1) e NAC100, NAC150 e NAC200 (local 2) resultaram no maior valor de N acumulado no colmo, com valores médios aproximados de 105 e de 116 kg ha⁻¹, respectivamente

em cada local. Na parte aérea os maiores acúmulos de N foram de 175 kg ha⁻¹ no local 1 e média de 212 kg ha⁻¹ no local 2, ambos obtidos com o NAC150 e NAC200 (Tabela 2.5). Esses tratamentos acumularam cerca de 30 e 60 kg ha⁻¹ a mais de N que o tratamento controle nos locais 1 e 2, respectivamente. Tais resultados podem ser explicados pela maior disponibilidade de N às plantas, bem como pela maior produção de biomassa seca nos referidos manejos que acumularam mais N. Costa et al. (2016), avaliando o efeito de doses de N (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹) e lâminas de irrigação (14,980, 16,140, 17,390 e 18,540 m³ ha⁻¹), sobre o acúmulo de nutrientes na cana-de-açúcar relataram incremento no acúmulo do nutriente nas folhas, colmos e ponteiros com o aumento nas doses de N, onde o máximo acúmulo nos colmos e folhas (259 e 121 kg ha⁻¹, respectivamente) foi obtido na dose de 120 kg ha⁻¹.

Neste estudo a quantidade de N acumulada na parte aérea das plantas nos dois locais variou de 143 a 213 kg ha⁻¹ em função do manejo do N-fertilizante e de 113 a 212 kg ha⁻¹ dependendo do ciclo de soqueira da cana-de-açúcar. Essa quantidade é maior que a adicionada via fertilizante em todos os tratamentos, com única exceção para o NAC200 no local 1 (Tabela 2.5). Como explicado anteriormente para a produtividade de colmos, isto se deve à contribuição de outras vias de disponibilização do N às plantas, como mineralização da MOS ou dos resíduos vegetais presentes no solo, absorção de compostos orgânicos de baixo peso molecular, fixação biológica, entre outros (URQUIAGA et al., 2012; FRANCO et al., 2011; VINALL et al., 2012; TRIVELIN et al., 2013; OTTO et al., 2016). Outros resultados de literatura relataram acúmulo de N na parte aérea próximos ao encontrado no presente estudo. Por exemplo, Franco et al. (2011) encontraram valores totais de acúmulo de N de 95 a 154 kg ha⁻¹ para a primeira soqueira de cana-de-açúcar. Contudo, certamente, a quantidade de N acumulada depende da produção de colmos e de biomassa seca da cultura. Leite et al. (2016), por exemplo, relataram que o acúmulo de N na parte aérea da cana-de-açúcar variou de 85 a 425 kg ha⁻¹, com média de 197 kg ha⁻¹ de N. Segundo os autores, essa variação foi devido à grande variação na produtividade de colmos encontrada em três locais experimentais, que foram de 67 a 211 kg ha⁻¹, com média de 125 kg ha⁻¹ de colmos.

Com o aumento na aplicação de N, a doses chegaram a 200 kg ha⁻¹, os aumentos na absorção de N pela planta foram maiores que o acúmulo de biomassa. Isso indica que esta dose extrapolou o ponto de máximo acúmulo de nutrientes, ou ainda, que a cultura pode ter consumo de luxo de N (ROBINSON et al., 2014).

Tabela 2.5 – Efeito dos fatores: manejo do N-fertilizante (M) e ciclos de soqueiras (S) e sua interação (M x S), no acúmulo de N nos compartimentos da cana-de-açúcar, nos locais 1 e 2

Fator	Acúmulo de N (kg ha ⁻¹)				
	Colmo	Ponteiro	Folha seca	Parte aérea	C.S. ¹
Local 1					
Manejo (M)²					
CONTR0	80 ± 1 d	32 ± 1	30 ± 1 b	143 ± 2 c	11 ± 0,4
NA100	95 ± 2 bc	35 ± 1	40 ± 1 a	170 ± 2 ab	12 ± 0,2
UR100	87 ± 2 cd	34 ± 1	37 ± 1 a	159 ± 3 b	11 ± 0,1
NAC50	92 ± 2 c	31 ± 1	36 ± 1 a	160 ± 2 b	11 ± 0,5
NAC100	95 ± 2 bc	31 ± 1	39 ± 1 a	164 ± 2 ab	11 ± 0,4
NAC150	104 ± 1 ab	33 ± 1	39 ± 1 a	175 ± 1 a	13 ± 0,2
NAC200	105 ± 2 a	31 ± 1	38 ± 1 a	174 ± 2 a	13 ± 0,4
Soqueira (S)					
1 ^a	67 ± 2 D	24 ± 1 D	22 ± 1 C	113 ± 4 E	8 ± 0,5 C
2 ^a	98 ± 4 B	32 ± 1 C	38 ± 2 B	168 ± 5 C	13 ± 0,9 A
3 ^a	115 ± 3 A	40 ± 2 A	46 ± 1 A	201 ± 4 A	14 ± 0,6 A
4 ^a	106 ± 3 B	36 ± 1 B	43 ± 1 A	185 ± 4 B	13 ± 0,6 A
5 ^a	84 ± 3 C	30 ± 2 C	36 ± 1 B	152 ± 3 D	10 ± 0,8 B
Valor de p					
p M	<0,0001	0,430	<0,001	<0,001	0,301
p S	<0,0001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p M x S	0,824	0,798	0,920	0,964	0,536
Local 2					
Manejo (M)					
CONTR0	78 ± 1 d	34 ± 1	37 ± 1 c	150 ± 1 d	13 ± 0,8 cd
NA100	103 ± 1 bc	43 ± 1	45 ± 1 b	191 ± 1 bc	14 ± 0,4 bcd
UR100	103 ± 1 bc	41 ± 1	46 ± 1 b	189 ± 2 bc	11 ± 0,5 d
NAC50	93 ± 1 c	40 ± 1	47 ± 1 b	180 ± 1 c	15 ± 0,4 abc
NAC100	113 ± 2 ab	39 ± 1	47 ± 1 ab	199 ± 1 ab	15 ± 0,5 abc
NAC150	119 ± 1 a	43 ± 1	51 ± 1 ab	213 ± 2 a	17 ± 0,4 ab
NAC200	117 ± 2 a	44 ± 1	53 ± 1 a	213 ± 2 a	17 ± 0,2 a
Soqueira (S)					
2 ^a	112 ± 3 A	42 ± 2	42 ± 1 C	193 ± 4 B	15 ± 1 AB
3 ^a	112 ± 5 A	43 ± 2	57 ± 2 A	212 ± 6 A	14 ± 1 BC
4 ^a	107 ± 4 A	35 ± 1	50 ± 2 B	192 ± 6 B	17 ± 1 A
5 ^a	87 ± 5 B	43 ± 1	37 ± 2 D	167 ± 6 C	13 ± 1 C
Valor de p					
p M	<0,001	0,002	<0,001	<0,001	0,004
p S	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,002
p M x S	0,209	<0,001	0,770	0,080	0,112

¹ C.S.=colmos subterrâneos; ² CONTR0= controle; NA100: nitrato de amônio (100 kg ha⁻¹ de N); UR100: Ureia (100 kg ha⁻¹ de N); NAC50, NAC100, NAC150 e NAC200: Nitrato de amônio e cálcio (50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ de N). [†] Médias ± erro padrão das médias (n=20 no local 1 e n=16 no local 2 para M e n=28 nos dois locais para S). Letras minúsculas distintas indicam diferenças para o manejo do N-fertilizante e letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre as soqueiras de cana-de-açúcar, ambos pelo teste t (LSD), com p ≤ 0,05.

O acúmulo de N no ponteiro foi influenciado pela interação manejo do N-fertilizante e soqueiras da cana-de-açúcar no local 2 (Figura 2.7). Os resultados revelaram que na segunda soqueira o NAC200 acumulou 53,8 kg ha⁻¹ de N, quantidade superior ao acumulado pelo controle, NA100, UR100 e NAC100; na terceira soqueira o NA100 acumulou 57,2 kg ha⁻¹ de N, acúmulo este superior aos dos demais tratamentos; na quarta soqueira o acúmulo médio foi de 34,5 kg ha⁻¹ de N, não havendo diferença entre os tratamentos; e na quinta soqueira o NAC150 acumulou 50,7 kg ha⁻¹ de N, quantidade superior ao acumulado pelo controle e NAC50 (Figura 2.7). Estas diferenças foram influenciadas pela concentração de N no ponteiro (dados não apresentados) uma vez que a produção de biomassa seca neste compartimento não sofreu influência do manejo do N-fertilizante. Contudo, não está claro porque estas diferenças ocorreram.

Figura 2.7 – Influência da interação do manejo do N-fertilizante e dos ciclos de soqueiras de cana-de-açúcar no acúmulo de N no ponteiro das plantas, no local 2. As barras verticais representam o erro padrão da média (n=4). Letras minúsculas distintas indicam diferenças para o manejo do N-fertilizante dentro de cada soqueira e letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre as soqueiras dentro de cada manejo, ambos pelo teste t (LSD), com $p \leq 0,05$.

O acúmulo de N nos colmos subterrâneos foi influenciado pelo manejo do N-fertilizante no local 2, sendo que o NAC200 acumulou maior quantidade de N nos colmos subterrâneos comparados ao controle, NA100 e UR100 (Tabela 2.5). Alguns trabalhos indicaram que o N acumulado nos compartimentos subterrâneos é importante para a manutenção da produtividade da cana-de-açúcar, como mostrado por Vitti et al. (2007), que encontraram correlação positiva entre o N acumulado no sistema radicular e a produtividade da soqueira subsequente. Carneiro, Trivelin e

Victoria (1995), utilizando o traçador ^{15}N , relataram que 6 a 12 kg ha $^{-1}$ de N acumulado nos colmos subterrâneos foi translocado para novos tecidos de crescimento da cana-de-açúcar, o que representou 5 a 10% do total de N acumulado pela cana-planta.

No local 1 o acúmulo de P não foi influenciado pelo manejo do N-fertilizante em nenhum compartimento (Tabela 2.6). Os acúmulos médios, neste caso, foram de 9,9, 3,6, 1,8; 15,3 e 1,5 kg ha $^{-1}$ de P para o colmo, ponteiro, folha seca, parte aérea e colmos subterrâneos, respectivamente. Por outro lado, houve influência do ciclo de soqueira da cana-de-açúcar no acúmulo de P, onde o menor acúmulo na parte aérea das plantas foi de 9,1 kg ha $^{-1}$ na quarta soqueira e o maior acúmulo de 21,4 kg ha $^{-1}$ na terceira soqueira (Tabela 2.6). Estes valores estão um pouco abaixo dos relatados para a cultura em outros estudos, que se encontram na faixa média de 21 a 39 kg ha $^{-1}$ de P (RAKKIYAPPAN et al. 2007; OLIVEIRA et al., 2010; LEITE et al., 2016). Provavelmente isto pode ser explicado pelo baixo teor de P no solo. Embora a adubação das soqueiras também tenha fornecido P, esta quantidade foi baixa (14,4 kg ha $^{-1}$ de P por soqueira), e isto pode ter limitado a absorção do nutriente pela cana-de-açúcar.

No local 2, assim como ocorreu no local 1, o ciclo de soqueira influenciou o acúmulo de P nos compartimentos vegetais, sendo a quinta soqueira responsável pela maior extração de P no ponteiro (4,8 kg ha $^{-1}$) e folha seca (2,2 kg ha $^{-1}$). Por sua vez, o manejo do N-fertilizante também não afetou o acúmulo de P no ponteiro e folha seca, que apresentaram acúmulo médio de 4,1 e 1,4 kg ha $^{-1}$ de P, respectivamente (Tabela 2.6). Contudo, para o colmo, parte aérea e colmos subterrâneos houve interação entre o manejo do N e os ciclos de soqueiras no acúmulo de P (Tabela 2.6). Na segunda soqueira não houve diferença entre o manejo do N para o acúmulo de P no colmo e parte aérea, enquanto nos colmos subterrâneos o NAC200 acumulou menor quantidade de P que o controle e NA100 (Figura 2.8); na terceira soqueira o controle e NA100 acumularam maior quantidade de P no colmo (média de 10,7 kg ha $^{-1}$) e parte aérea (média de 16,7 kg ha $^{-1}$), que os demais tratamentos; na quarta soqueira as plantas apresentaram a menor extração de P no colmo e parte aérea na maioria dos tratamentos, comparado com as demais soqueiras; e na quinta soqueira o controle também acumulou maior quantidade de P nos três compartimentos vegetais (colmo, parte aérea e colmos subterrâneos) que a maioria dos manejos fertilizados (Figura 2.8).

Tabela 2.6 – Efeito dos fatores: manejo do N-fertilizante (M) e ciclos de soqueiras (S) e sua interação (M x S), no acúmulo de P nos compartimentos da cana-de-açúcar, nos locais 1 e 2

Fator	Acúmulo de P (kg ha ⁻¹)				
	Colmo	Ponteiro	Folha seca	Parte aérea	C.S. ¹
Local 1					
Manejo (M)²					
CONTR0	10,1 ± 0,2	3,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1	15,4 ± 0,3	1,5 ± 0,1
NA100	10,3 ± 0,2	3,7 ± 0,1	1,9 ± 0,1	15,9 ± 0,2	1,6 ± 0,1
UR100	10,0 ± 0,2	3,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1	15,2 ± 0,2	1,4 ± 0,1
NAC50	9,3 ± 0,2	3,5 ± 0,1	1,8 ± 0,1	14,6 ± 0,3	1,5 ± 0,1
NAC100	9,6 ± 0,4	3,6 ± 0,1	1,9 ± 0,1	15,1 ± 0,4	1,5 ± 0,1
NAC150	10,1 ± 0,2	3,6 ± 0,1	1,9 ± 0,1	15,6 ± 0,2	1,7 ± 0,1
NAC200	9,8 ± 0,1	3,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1	15,1 ± 0,1	1,5 ± 0,1
Soqueira (S)					
1 ^a	10,0 ± 0,4 B	3,5 ± 0,1 B	1,9 ± 0,1 B	15,4 ± 0,5 BC	1,0 ± 0,1 C
2 ^a	10,6 ± 0,4 B	3,5 ± 0,1 B	2,1 ± 0,1 B	16,1 ± 0,4 B	1,4 ± 0,1 B
3 ^a	14,4 ± 0,4 A	4,5 ± 0,1 A	2,6 ± 0,1 A	21,4 ± 0,4 A	2,0 ± 0,1 A
4 ^a	5,7 ± 0,4 D	2,9 ± 0,1 C	0,5 ± 0,1 C	9,1 ± 0,4 D	1,3 ± 0,1 BC
5 ^a	8,8 ± 0,3 C	3,6 ± 0,2 B	2,0 ± 0,1 B	14,3 ± 0,4 C	1,8 ± 0,1 A
Valor de p					
p M	0,761	0,964	0,511	0,6821	0,677
p S	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p M x S	0,189	0,830	0,470	0,314	0,053
Local 2					
Manejo (M)					
CONTR0	9,5 ± 0,1	3,9 ± 0,1	1,3 ± 0,1	14,7 ± 0,1	1,9 ± 0,1
NA100	6,9 ± 0,1	3,9 ± 0,1	1,5 ± 0,1	12,3 ± 0,1	1,4 ± 0,1
UR100	6,8 ± 0,1	4,1 ± 0,1	1,5 ± 0,1	12,3 ± 0,2	1,2 ± 0,1
NAC50	6,9 ± 0,2	4,2 ± 0,1	1,5 ± 0,1	12,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1
NAC100	6,9 ± 0,3	4,1 ± 0,1	1,4 ± 0,1	12,4 ± 0,2	1,3 ± 0,1
NAC150	6,5 ± 0,2	4,5 ± 0,1	1,4 ± 0,1	12,4 ± 0,2	1,5 ± 0,1
NAC200	6,5 ± 0,3	4,4 ± 0,1	1,6 ± 0,1	12,5 ± 0,3	1,5 ± 0,1
Soqueira (S)					
2 ^a	10,3 ± 0,4	4,6 ± 0,2 AB	1,8 ± 0,1 B	16,7 ± 0,4	1,6 ± 0,1
3 ^a	6,7 ± 0,6	4,2 ± 0,1 B	1,5 ± 0,1 B	12,5 ± 0,6	1,2 ± 0,1
4 ^a	3,3 ± 0,4	2,9 ± 0,1 C	0,3 ± 0,1 C	6,5 ± 0,4	1,4 ± 0,1
5 ^a	8,2 ± 0,4	4,8 ± 0,2 A	2,2 ± 0,2 A	15,3 ± 0,5	1,8 ± 0,1
Valor de p					
p M	<0,001	0,154	0,900	0,011	<0,001
p S	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p M x S	<0,001	0,169	0,979	<0,001	0,040

¹ C.S. = colmos subterrâneos; ² CONTR0= controle; NA100: nitrato de amônio (100 kg ha⁻¹ de N); UR100: Ureia (100 kg ha⁻¹ de N); NAC50, NAC100, NAC150 e NAC200: Nitrato de amônio e cálcio (50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ de N). [†] Médias ± erro padrão das médias (n=20 no local 1 e n=16 no local 2 para M e n=28 nos dois locais para S). Letras minúsculas distintas indicam diferenças para o manejo do N-fertilizante e letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre as soqueiras de cana-de-açúcar, ambos pelo teste t (LSD), com p ≤ 0,05.

Figura 2.8 – Influência da interação entre o manejo do N-fertilizante e os ciclos de soqueiras de cana-de-açúcar no acúmulo de P no colmo (A), parte aérea (B) e colmos subterrâneos – C.S. (C), no local 2. As barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Letras minúsculas distintas indicam diferenças para o manejo do N-fertilizante dentro de cada soqueira e letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre as soqueiras dentro de cada manejo, ambos pelo teste t (LSD), com $p \leq 0,05$.

No local 1 e em alguns compartimentos do local 2 não houve alteração no acúmulo de P em função do manejo do N-fertilizante, o que pode ser explicado pelo baixo conteúdo de P no solo, que de certa forma, limita a extração deste nutriente pela planta. Já para o colmo, parte aérea e colmos subterrâneos do local 2, observou-se que, de modo geral, o tratamento controle apresentou os maiores acúmulos de P (Figura 2.8). Isso pode estar relacionado com o maior desenvolvimento do sistema radicular em profundidade quando não houve fornecimento de N, uma vez que a disponibilidade de N mineral afeta a atividade das raízes, possivelmente devido ao impacto na distribuição das raízes (SMITH; INMAN-BAMBER; THORBURN, 2005). Normalmente as plantas diminuem a relação entre a massa de raiz e a massa total da planta em resposta ao aumento da fertilidade do solo (REYNOLDS; D'ANTONIO, 1996). Dessa forma, os tratamentos não fertilizados tendem a ter maior crescimento do sistema radicular em profundidade a fim de explorar maior volume de solo e adquirir mais água e nutrientes.

O acúmulo de K nos compartimentos vegetais também não foi influenciado pelo manejo do N-fertilizante no local 1, sofrendo apenas efeito das soqueiras (Tabela 2.7). Neste caso, o maior acúmulo de K no colmo e parte aérea das plantas foi de 128 e 195 kg ha⁻¹, respectivamente, ambos obtidos na segunda soqueira. Por outro lado, o menor acúmulo de K nestes compartimentos foi encontrada na quinta soqueira: 57 e 103 kg ha⁻¹ no colmo e parte aérea, respectivamente (Tabela 2.7). Do mesmo modo, o acúmulo do nutriente no colmo e ponteiro no local 2 também foi influenciado apenas pelo fator ciclo de soqueira da cana-de-açúcar, sendo que na quarta soqueira as plantas acumularam 123 kg ha⁻¹ de K no colmo. A análise dos resultados revela que a quantidade de K acumulada pelos compartimentos vegetais nos dois locais tendeu a sofrer redução ao longo dos anos de cultivo da cana-de-açúcar. Isso possivelmente ocorreu porque o acúmulo deste nutriente no colmo, e consequentemente a exportação de K, foi maior que a quantidade adicionada anualmente via fertilizante, gerando um déficit no sistema solo-planta e reduzindo a quantidade do nutriente disponível para absorção no ano seguinte. Contudo essa tendência não se manteve para o acúmulo de K nos colmos subterrâneos, que teve pouca variação na quantidade de K ao longo dos ciclos de soqueira, principalmente no local 1 (Tabela 2.7). Segundo Franco et al. (2007) no final do ciclo da cultura ocorre translocação do N e K da parte aérea das plantas para as raízes, objetivando aumentar suas reservas nutricionais para garantir seu próximo ciclo.

Tabela 2.7 – Efeito dos fatores: manejo do N-fertilizante (M) e ciclos de soqueiras (S) e sua interação (M x S), no acúmulo de K nos compartimentos da cana-de-açúcar, nos locais 1 e 2

Fator	Acúmulo de K (kg ha ⁻¹)				
	Colmo	Ponteiro	Folha seca	Parte aérea	C.S. ¹
Local 1					
Manejo (M)²					
CONTR0	90 ± 3	44 ± 1	17 ± 0,4	152 ± 3	7,0 ± 0,4
NA100	108 ± 2	45 ± 1	16 ± 0,7	169 ± 2	6,6 ± 0,1
UR100	102 ± 2	44 ± 1	15 ± 0,3	161 ± 2	6,1 ± 0,3
NAC50	97 ± 2	48 ± 1	16 ± 1,0	161 ± 2	6,6 ± 0,4
NAC100	96 ± 2	47 ± 1	16 ± 0,4	159 ± 2	5,6 ± 0,1
NAC150	105 ± 4	47 ± 1	20 ± 0,6	173 ± 6	6,7 ± 0,2
NAC200	94 ± 4	44 ± 1	18 ± 0,4	156 ± 5	6,3 ± 0,3
Soqueira (S)					
1 ^a	112 ± 5 B	32 ± 1 D	20 ± 2 A	164 ± 6 B	4,1 ± 0,3 B
2 ^a	128 ± 5 A	48 ± 2 B	20 ± 1 A	195 ± 6 A	6,7 ± 0,5 A
3 ^a	92 ± 5 C	64 ± 2 A	15 ± 1 B	171 ± 7 B	7,5 ± 0,4 A
4 ^a	106 ± 3 B	47 ± 2 B	22 ± 1 A	176 ± 5 B	7,0 ± 0,4 A
5 ^a	57 ± 3 D	38 ± 2 C	8 ± 1 C	103 ± 4 C	6,7 ± 0,5 A
Valor de p					
p M	0,1879	0,675	0,253	0,224	0,618
p S	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p M x S	0,866	0,686	0,970	0,834	0,780
Local 2					
Manejo (M)					
CONTR0	100 ± 1	72 ± 1	20 ± 1 abc	192 ± 1 a	9,1 ± 0,3 ab
NA100	87 ± 2	62 ± 1	16 ± 1 bc	166 ± 2 b	6,7 ± 0,1 c
UR100	100 ± 2	67 ± 2	24 ± 1 ab	190 ± 2 a	6,5 ± 0,1 c
NAC50	95 ± 4	67 ± 1	20 ± 1 bc	181 ± 4 ab	9,3 ± 0,3 a
NAC100	83 ± 2	69 ± 1	15 ± 1 c	166 ± 2 b	7,4 ± 0,2 c
NAC150	98 ± 5	69 ± 2	28 ± 3 a	194 ± 6 a	7,9 ± 0,2 bc
NAC200	93 ± 3	66 ± 2	22 ± 1 abc	181 ± 3 ab	7,8 ± 0,2 bc
Soqueira (S)					
2 ^a	95 ± 5 B	91 ± 3 A	23 ± 2 AB	209 ± 8 A	5,0 ± 0,3 C
3 ^a	90 ± 4 B	82 ± 2 B	17 ± 1 BC	190 ± 6 B	7,6 ± 0,5 B
4 ^a	123 ± 5 A	58 ± 2 C	28 ± 4 A	208 ± 7 A	10,0 ± 0,4 A
5 ^a	67 ± 3 C	39 ± 2 D	14 ± 1 C	120 ± 4 C	8,6 ± 0,5 B
Valor de p					
p M	0,304	0,444	0,030	0,034	0,034
p S	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p M x S	0,217	0,311	0,784	0,240	0,240

¹ C.S. = colmos subterrâneos; ² CONTR0= controle; NA100: nitrato de amônio (100 kg ha⁻¹ de N); UR100: Ureia (100 kg ha⁻¹ de N); NAC50, NAC100, NAC150 e NAC200: Nitrato de amônio e cálcio (50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ de N). [†] Médias ± erro padrão das médias (n=20 no local 1 e n=16 no local 2 para M e n=28 nos dois locais para S). Letras minúsculas distintas indicam diferenças para o manejo do N-fertilizante e letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre as soqueiras de cana-de-açúcar, ambos pelo teste t (LSD), com p ≤ 0,05.

No local 2, o manejo do N-fertilizante alterou o acúmulo de K na folha seca, parte aérea e colmos subterrâneos das plantas (Tabela 2.7). A utilização do NAC150 aumentou o acúmulo de K na folha seca e parte aérea, que acumularam respectivamente 28 e 194 kg ha⁻¹ de K. Esses acúmulos foram maiores aos obtidos pelo NA100 e NAC100. Os maiores acúmulos de K no colmos subterrâneos, por sua vez, ocorreram no NAC50 e controle (Tabela 2.7). Essas diferenças estão principalmente relacionadas com alterações nas concentrações de K em função do manejo do fertilizante (dados não apresentados).

É possível observar que as quantidades de K acumuladas na parte aérea das plantas, em ambos os locais não passaram de 210 kg ha⁻¹ (Tabela 2.7). Essas quantidades são baixas comparadas com outros resultados encontrados na literatura. Por exemplo, Shukla et al. (2009) e Coale et al. (1993) relataram valores de K acumulado na parte aérea da cana-de-açúcar no momento da colheita de 228 a 340 kg ha⁻¹, sendo o rendimento de colmos de 80 e 96 Mg ha⁻¹. Por ser um nutriente que apresenta consumo de luxo as quantidades extraídas pela parte aérea podem ser muito mais elevadas. Leite et al. (2016) relataram acúmulo de K na parte aérea de até 970 kg ha⁻¹, em um solo com longo histórico de aplicação de vinhaça, com nível de K $\geq 4,0$ mmol_c dm⁻³ ao longo do perfil do solo, até 1 metro de profundidade. A quantidade relativamente pequena de K extraídas pela cana-de-açúcar no presente estudo pode estar relacionada com o baixo conteúdo de K no solo.

2.3.6 Balanço parcial de macronutrientes no sistema solo-planta

O estudo do balanço de macronutrientes no sistema solo-planta, considerando suas entradas e saídas, após cinco ciclos de soqueira no local 1 e quatro ciclos de soqueira no local 2 foram contabilizados e são apresentados nas Figuras 2.9 a 2.12. O balanço considerou as condições em que o estudo foi desenvolvido, de manutenção da palhada no solo após a colheita, além de uma condição hipotética considerando a completa remoção da palhada. Isso porque a manutenção ou remoção da palha da superfície do solo é uma das discussões mais recentes no cultivo da cana-de-açúcar colhida mecanicamente sem despalha a fogo no Brasil, devido ao interesse das usinas sucroalcooleiras em utilizar esse resíduo

vegetal como fonte de renda, especialmente, na cogeração de energia elétrica, em busca de maior rentabilidade na empresa sucroenergética.

A palhada vem sendo utilizada como material de queima para as caldeiras, gerando energia elétrica (cogeração) e, também, para a produção de etanol de segunda geração (GOLDEMBERG, 2007; ROCHA et al., 2012). Muitas pesquisas realizadas atualmente com a cultura focam em questões como: Quanta palha deve ser retirada do solo? Como efetuar sua remoção da melhor maneira possível? A remoção da palha irá trazer prejuízos ao sistema de cultivo da cana-de-açúcar? Muitos estudos sobre este tema vêm utilizando modelagem para predizer respostas a cerca destas questões (THORBURN; HORAN; BIGGS, 2004; TRIVELIN et al., 2013; COSTA et al., 2014; MARIN et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2016), visto que estudos de longo prazo a respeito do tema ainda não são relatados. Considerando apenas as questões nutricionais realizou-se uma simulação simplificada do balanço de macronutrientes nos dois locais experimentais deste estudo, para analisar como a manutenção e a remoção da palhada afetariam o balanço de nutrientes nos sistema de cultivo, em cada um dos manejos nitrogenados adotados no presente estudo. É importante destacar que o real balanço parcial de nutrientes num sistema de remoção de palha somente seria corretamente estimado em experimento com parcelas que removessem a palha. Isso porque a quantidade de nutrientes da palha permaneceu no sistema, e no caso de nutrientes móveis, como o K, serviu para utilização pela planta, embora não tenha sido considerado como entrada no sistema. Ou seja, para nutrientes que são liberados facilmente pela palha, como o K, por exemplo, o balanço no sistema de remoção de palha pode ser muito mais negativo do que o encontrado no presente estudo.

Nos dois locais as entradas de N, Ca e Mg foram diferentes em função do manejo do N-fertilizante, uma vez que estes apresentam doses distintas de N, e uma das fontes utilizadas, o NAC, apresenta Ca e Mg em sua composição. Assim, a maior entrada de N, Ca e Mg ocorreu com a utilização do NAC200: 1000, 1134 e 514 kg ha⁻¹ de N, Ca e Mg, respectivamente no local 1, e 800, 1121 e 510 kg ha⁻¹ de N, Ca e Mg, respectivamente no local 2 (Figura 2.9 a 2.12). O menor aporte destes nutrientes no sistema solo-planta, por sua vez, ocorreram no tratamento controle, com zero de N e 494 kg ha⁻¹ de Mg (nos dois locais), e 1094 e 1089 kg ha⁻¹ de Ca, nos locais 1 e 2, respectivamente. As entradas de P, K e S entre os manejos do N-fertilizante foram iguais.

Figura 2.9 - Balanço parcial de N (A, B), P (C, D) e Ca (E, F) no sistema solo-planta após o cultivo de cinco ciclos de soqueiras no local 1 (2010 a 2015) mantendo a palha (A, C, E) e simulando a remoção da palha (B, D, F), em função do manejo do N-fertilizante. CONTR0= controle; NA100: nitrato de amônio (100 kg ha^{-1} de N); UR100: Ureia (100 kg ha^{-1} de N); NAC50, NAC100, NAC150 e NAC200: Nitrato de amônio e cálcio (50, 100, 150 e 200 kg ha^{-1} de N). As barras verticais representam o erro padrão da média ($n=20$). Letras minúsculas distintas indicam diferenças ($p \leq 0,05$) pelo teste t (LSD) entre os manejos para a entrada, extração e balanço de nutrientes dentro de cada local.

Figura 2.10 - Balanço parcial de N (A, B), P (C, D) e Ca (E, F) no sistema solo-planta após o cultivo de cinco ciclos de soqueiras no local 2 (2011 a 2015) mantendo a palha (A, C, E) e simulando a remoção da palha (B, D, F), em função do manejo do N-fertilizante. CONTR0= controle; NA100: nitrato de amônio (100 kg ha⁻¹ de N); UR100: Ureia (100 kg ha⁻¹ de N); NAC50, NAC100, NAC150 e NAC200: Nitrato de amônio e cálcio (50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ de N). As barras verticais representam o erro padrão da média (n=16). Letras minúsculas distintas indicam diferenças ($p \leq 0,05$) pelo teste t (LSD) entre os manejos para a entrada, extração e balanço de nutrientes dentro de cada local.

Figura 2.11 - Balanço parcial de Ca (A, B), Mg (C, D) e S (E, F) no sistema solo-planta após o cultivo de cinco ciclos de soqueiras no local 1 (2010 a 2015) mantendo a palha (A, C, E) e simulando a remoção da palha (B, D, F), em função do manejo do N-fertilizante. CONTR0= controle; NA100: nitrato de amônio (100 kg ha⁻¹ de N); UR100: Ureia (100 kg ha⁻¹ de N); NAC50, NAC100, NAC150 e NAC200: Nitrato de amônio e cálcio (50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ de N). As barras verticais representam o erro padrão da média (n=20). Letras minúsculas distintas indicam diferenças ($p \leq 0,05$) pelo teste t (LSD) entre os manejos para a entrada, extração e balanço de nutrientes dentro de cada local.

Figura 2.12 - Balanço parcial de Ca (A, B), Mg (C, D) e S (E, F) no sistema solo-planta após o cultivo de cinco ciclos de soqueiras no local 2 (2011 a 2015) mantendo a palha (A, C, E) e simulando a remoção da palha (B, D, F), em função do manejo do N-fertilizante. CONTRO= controle; NA100: nitrato de amônio (100 kg ha⁻¹ de N); UR100: Ureia (100 kg ha⁻¹ de N); NAC50, NAC100, NAC150 e NAC200: Nitrato de amônio e cálcio (50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ de N). As barras verticais representam o erro padrão da média (n=16). Letras minúsculas distintas indicam diferenças ($p \leq 0,05$) pelo teste t (LSD) entre os manejos para a entrada, extração e balanço de nutrientes dentro de cada local.

No local 1 a manutenção da palha no agrossistema manteve positivo o balanço de N no sistema cultivado por cinco anos, somente quando foram utilizadas doses iguais ou superiores a 100 kg ha⁻¹ de N-fertilizante. O controle teve balanço negativo de 401 kg ha⁻¹ de N, enquanto o NAC200 adicionou positivamente ao solo 474 kg ha⁻¹ (Figura 2.9 A). Por outro lado, a remoção da palha manteria balanço

positivo de N, de 129 kg ha^{-1} , somente quando 200 kg ha^{-1} de N (NAC200) foram aplicados anualmente nas soqueiras. A exportação de N no controle (colmo + palhada), neste caso, seria de 714 kg ha^{-1} de N (Figura 2.9 B). No local 2, por sua vez, o cultivo de soqueiras por quatro anos revelou que mesmo com a manutenção da palha, o balanço de N somente foi positivo para o NAC150 e NAC200 (Figura 2.10 A). Já com a remoção da palha, todos os manejos geraram déficit de N no sistema, onde o controle e o NAC200 removeriam, em quatro anos, cerca de 600 e 50 kg ha^{-1} de N, respectivamente (Figura 2.10 B). Apesar disso, o balanço positivo de N no sistema com a utilização de 200 kg ha^{-1} de N pode ter consequências ambientais negativas, uma vez que Sattolo (2016) observou, nestes mesmos locais experimentais, que a utilização dessa dose de N resulta em acúmulo de nitrato em camadas profundas do solo, indicando potenciais de perdas do nutriente por lixiviação no sistema.

No início de adoção do sistema de colheita da cana-de-açúcar sem queima, com deposição dos resíduos culturais na superfície do solo, a decomposição da palhada pode levar à imobilização do N (BASANTA et al., 2003; ROBERTSON; THORBURN, 2007). Contudo, após anos de estabelecimento desse sistema, a tendência é que o N contido na palhada, após decomposição pelos microrganismos do solo, passe a ser mineralizado e se torne fonte de N para as plantas (FERREIRA et al., 2016). Estudo de modelagem feito por Trivelin et al. (2013) indicaram que a manutenção dos resíduos vegetais sobre o solo deve aumentar o estoque de N do solo e recuperação de N pela cana, atingindo um equilíbrio depois de 40 anos, com recuperação de $40 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de N.

O balanço de P não foi influenciado pelo manejo do N-fertilizante no local 1. Com a manutenção da palha, em média $25,6 \text{ kg ha}^{-1}$ de P foram adicionados ao sistema, enquanto que, por outro lado, a remoção da palha resultaria em déficit médio de $5,7 \text{ kg ha}^{-1}$ de P em cinco anos (Figura 2.9 C e D). No local 2, por sua vez, o manejo do N-fertilizante alterou o balanço de P. O tratamento controle apresentou menor balanço de P que os demais tratamentos, mas tanto a manutenção como a remoção da palha resultariam em balanço positivo deste nutriente (Figura 2.10 C e D). A remoção da palha no tratamento não fertilizado deixaria apenas 1 kg ha^{-1} de P, enquanto com a utilização de fertilizantes nitrogenados, em média $10,4 \text{ kg ha}^{-1}$ de P permaneceriam no sistema. A maior extração de P no controle no local 2, como

explicado anteriormente, pode estar relacionada com o maior desenvolvimento do sistema radicular em profundidade quando não houve fornecimento de N às plantas.

O balanço de K também não foi influenciado pelo manejo do N-fertilizante. Nos dois locais houve déficit de K do sistema, mesmo com a manutenção da palha no solo (Tabela 2.9 e 2.10 E, F). No local 1 a manutenção da palha removeu do solo em média 163 kg ha^{-1} de K, enquanto a remoção da palha removeria 476 kg ha^{-1} (Figura 2.9 E, F). No local 2, por sua vez, a remoção de K foi em média de 151 e 503 kg ha^{-1} com a manutenção e remoção da palha, respectivamente (Figura 2.10 E,F). Como relatado anteriormente, os déficits de K no sistema considerando a remoção de palha podem ser muito mais negativos dos que os encontrados no presente estudo, uma vez que a palha permaneceu no sistema, e provavelmente serviu como fonte de K para as plantas. O déficit de K no sistema quando há completa remoção da palhada pode resultar em redução na produtividade de colmos da cana-de-açúcar, como mostrado em estudo de simulação da remoção da palhada na cultura realizado por Marin et al. (2014), uma vez que os resíduos vegetais da cana-de-açúcar contribuem de forma significativa para a nutrição da cultura com K (ROSSETTO et al., 2010a).

O manejo do N-fertilizante influenciou o balanço de Ca e Mg, nos dois locais, mas em todos os casos houve ganho líquido desses nutrientes. No local 1, o NAC 200 apresentou os maiores ganhos líquidos de Ca e Mg, tanto para a manutenção (1057 e 457 kg ha^{-1} , respectivamente) como para a remoção da palha (901 e 395 kg ha^{-1} , respectivamente). Provavelmente isto ocorreu devido à maior entrada desses nutrientes nessa fonte e também a menor extração de nutrientes neste tratamento comparado com NAC100 e NAC150 (Figura 2.11 A a D). No local 2, por sua vez, os maiores ganhos líquidos ocorreram no tratamento controle, que teve menor extração de nutrientes e manteve, portanto maior quantidade de Ca e Mg no solo (Figura 2.12 A a D). As duas calagens e a gessagem realizadas nas soqueiras forneceram importante aporte de nutrientes ao sistema, resultando em balanço positivo de Ca e Mg.

O balanço de S no local 1 foi influenciado pelo manejo do N-fertilizante quando a palha foi mantida no sistema. Neste caso, o NAC 100 apresentou o maior aporte positivo de S, de 100 kg ha^{-1} (Figura 2.11 E). Por outro lado, com a remoção de palha, os tratamentos não afetaram o balanço do nutriente, que em média teve balanço positivo de 20 kg ha^{-1} (Figura 2.11 F). No local 2, o balanço de S foi de em

média + 49 kg ha⁻¹ com a manutenção da palha, independente dos tratamentos (Figura 2.12 E). Já a remoção da palha, gerou déficit de S no sistema, da ordem de 57 kg ha⁻¹ em média para NAC100 e NAC150 (Figura 2.12 F).

É importante destacar que o balanço de Ca, Mg e S (local 1) no presente estudo foram positivos. Isso ocorreu basicamente devido à reposição destes nutrientes via calagem e gessagem realizado nas soqueiras de cana-de-açúcar. Embora esta prática de cultivo seja recomendada para as soqueiras (PENATTI, 2013), ela não é amplamente utilizada pelos produtores. Desta forma, estes nutrientes podem também apresentar balanço negativo no sistema em muitos cultivos de cana-de-açúcar no Brasil, que normalmente são corrigidos apenas no plantio da cana-planta, sem adição desses nutrientes nas soqueiras. Isso se torna particularmente mais grave quando é realizada a remoção da palha do sistema, visto que o Ca e o Mg são os nutrientes que mais aumentam a exportação quando a palha é removida. No local 1 a remoção da palha aumentou em 234 e 110 % a exportação de Ca e Mg, respectivamente, enquanto no local 2, este aumento foi de 277% para o Ca e 135% para o Mg. O Ca, importante componente estrutural celular, por ser considerado um nutriente pouco móvel quanto à sua redistribuição (MARSCHNER, 2012), basicamente se concentra nas folhas secas da cana-de-açúcar.

O presente estudo utilizou o balanço parcial de nutrientes (SINGH et al., 2007; COBO et al., 2009), que consideram apenas os fluxos “fáceis” para se medir ou estimar, como insumos de fertilizantes minerais e orgânicos, e saídas como a exportação das culturas e/ ou de resíduos vegetais removidos do sistema. O balanço completo de nutrientes, por sua vez, considera entrada de nutrientes via deposição úmida/ atmosférica, fixação biológica de nitrogênio, sedimentação; e saídas como lixiviação, perdas gasosas (volatilização, desnitrificação, entre outros) e erosão do solo (BINDRABAN et al., 2000; HAILESLASSIE et al., 2005). A vantagem do balanço parcial de nutrientes é que este tipo de análise permite discutir com os agricultores as potenciais implicações dos resultados, uma vez que os fluxos são considerados “visíveis” e “facilmente geridos” por parte dos agricultores (DEFOER et al., 1998).

Cogo, Dercon e Cadisch (2010) fizeram uma ampla revisão de literatura sobre o balanço de nutrientes em sistemas de uso de terra africanos e compararam as diferenças existentes entre o balanço parcial e completo de nutrientes. Segundo esses autores, as estimativas do balanço parcial foram significativamente mais

elevadas que o balanço completo, especialmente para nutrientes como N e K, enquanto para P a diferença entre os balanços foi menos notada. Isso porque, ainda segundo os autores, o P é menos móvel no solo, estando menos susceptível a perdas, através da lixiviação, por exemplo. Além disso, Delgadillo-Vargasa, Garcia-Ruiz e Forero-Álvarez (2016) estimaram o balanço de N, P e K para o sistema de cultivo da cana-de-açúcar na Colômbia de 1943 a 2010, e a partir dos resultados desses autores é possível verificar que as perdas de nutrientes não consideradas no presente estudo são maiores do que as entradas de nutrientes não quantificados. Desta forma, pode-se esperar que o balanço dos macronutrientes realizado no presente estudo possa ser menor que o relatado nos resultados.

No presente estudo os resultados indicaram que a manutenção da palha gerou balanço negativo de K (nos dois locais) e de N (quando o manejo do N-fertilizante aportou até 50 kg ha⁻¹ no local 1 e 100 kg ha⁻¹ no local 2). Por outro lado, a remoção da palha gerou déficit de N, K, P (local 1), e S (local 2). Com a remoção da palha do sistema, a exportação de nutrientes foi maior em, 78, 66, 78, 256, 123 e 66% para N, P, Ca, Mg e S, respectivamente, comparado com a manutenção da palha no campo (na média dos dois locais). Isso certamente implicaria em maiores custos de adubação, para repor os nutrientes extraídos pela palha. Caso estes nutrientes não forem repostos, estudos indicam tendência na redução da produtividade da cultura. Oliveira et al. (2016) relataram tendência na redução da produtividade de colmos com a remoção da palhada da cana-de-açúcar do campo quando as doses de fertilizantes nitrogenados utilizados foram baixas (menor que 80 kg ha⁻¹ de N). Costa et al. (2014), por sua vez, relataram que o aumento da dose de N para 180 kg ha⁻¹, não foi suficiente para impedir a redução na produtividade de colmos da cana-de-açúcar quando a palhada foi removida do agrossistema. Além disso, outros fatores podem afetar a redução na produtividade de colmos quando a palha for removida do sistema. Marin et al. (2014) simulando o efeito da manutenção ou remoção da palhada sobre a produtividade de colmos, em três ambientes de produção do Brasil, mostraram que o potencial de produção de colmos da cultura deve ser reduzido com a remoção parcial de 50% da palhada nos três ambientes avaliados. Segundo os autores a maior produção de colmos quando a palhada da cana-de-açúcar é mantida sobre o solo pode ser devido à redução na evaporação da água do solo, bem como pela entrada de N em longo prazo no sistema.

É importante conhecer o balanço de nutrientes do sistema de cultivo onde se trabalha, para realizar uma adequada gestão de nutrientes. Isso porque práticas agrícolas com balanço positivo de nutrientes, devido à elevada entrada externa, podem resultar em poluição das águas subterrâneas e superficiais. É o caso, por exemplo, do sistema de cultivo de cana-de-açúcar na Austrália, que utiliza grandes quantidades de fertilizantes nitrogenados que podem ser perdidos por lixiviação, uma vez que os solos no país são muito rasos (ROBINSON et al., 2011). Por outro lado, práticas agrícolas com saldo negativo, ou seja, baixas entradas externas de nutrientes podem resultar no esgotamento de nutrientes do solo, colocando em risco a produção agrícola. Este tipo de problema é frequentemente encontrado em países de clima tropical, como em muitos países africanos (HAILESLASSIE et al., 2005; COBO; DERCON; CADISCH, 2010). Em ambos os casos, há o pressuposto de que um sistema em desequilíbrio grave ou contínuo de nutrientes não é sustentável em longo prazo (HARTEMINK, 2006).

2.3.7 Alterações nos atributos químicos do solo

No local 1 houve interação entre o manejo do N-fertilizante e os ciclos de soqueiras da cana-de-açúcar para os atributos químicos do solo: COS, Ca e H+Al (Figura 2.13). Para o COS, a influência do fator manejo do N-fertilizante em cada soqueira da cana-de-açúcar indicou que nas duas primeiras soqueiras o NAC150 e NAC200 apresentaram aproximadamente 8,6 e 7,2 g dm⁻³ na primeira e segunda soqueira, respectivamente, quantidade essa menor em COS que nos tratamentos que receberam menores doses de N, ou os que não receberam N mineral (Figura 2.13 A). Provavelmente as maiores quantidades de N estimularam a decomposição da MOS, e parte do C foi liberado na forma de CO₂, diminuindo os estoques de COS, comparado com os tratamentos que receberam as menores quantidades de N. Com o tempo, as diferenças nos teores de COS entre os tratamentos foram diminuindo, visto que os referidos tratamentos, que no início aceleraram a decomposição da MOS, posteriormente tiveram maior produção de biomassa seca da parte aérea da cana-de-açúcar, aumentando dessa forma a quantidade de C incorporado ao solo pela palhada. No quinto ciclo agrícola de soqueira, a quantidade de COS dos tratamentos que receberam adubação nitrogenada (média de 7,1 g dm⁻³) foi superior ao do tratamento controle, que continha 5,9 g dm⁻³ de COS,

independentemente das fontes e doses de N empregadas (Figura 2.13 A). Pode-se inferir que aumento no estoque de COS e, conseqüentemente, na quantidade de MOS deve-se ao sequestro do C atmosférico, via fotossíntese, sendo, do ponto de vista ambiental, muito importante na mitigação da emissão de gases do efeito estufa (LAL et al., 1999). Contudo, o efeito do fator ciclos de soqueira mostra maior teor no COS na terceira soqueira, com tendência de redução desses teores com o tempo (Figura 2.13 A). Cherubin (2016) mostrou que a mudança de uso da terra, de um sistema de pastagem para cana-de-açúcar, tende a não impactar os teores de COS e NT em curto prazo (de aproximadamente 5 anos); contudo, em longo prazo (~20 anos) pode haver diminuição nos conteúdos de COS e NT. O autor relata que essa depleção no COS pode estar relacionada a vários fatores, como por exemplo, a forma de preparo de solo e adubação para plantio da cana-de-açúcar (MELLO et al., 2014). Apesar disso, outros estudos tem demonstrado que a manutenção da palhada da cana-de-açúcar no solo em vez da queima pode aumentar o teor de COS ao longo do tempo (ROBERTSON; THORBURN, 2007; GALDOS; CERRI; CERRI, 2009; CANELLAS et al., 2010; THORBURN et al., 2012). Cabe ressaltar, que a diferença nos teores de COS existentes ao longo dos anos no presente estudo pode ter tido influência do processo de escarificação do solo realizado pela usina em dois anos de cultivo.

Para os teores de Ca, os resultados mostraram que, de modo geral, os maiores teores deste nutriente no solo foram obtidos no tratamento controle, em comparação aos demais tratamentos. Exceção ocorreu na primeira soqueira que não apresentou diferença entre os manejos e na quarta soqueira, onde os teores de Ca no controle foram menores que o NAC100 e igual aos demais manejos (Figura 2.13 B). Isto pode ser explicado pela menor extração desse nutriente pela parte aérea das plantas (Figura 2.10 A). Conseqüentemente, os teores de H+Al foram menores no controle na terceira e quinta soqueiras (Figura 2.13 C), uma vez que maiores porcentagens de bases permaneceram trocáveis no solo (Tabela 2.8).

Ainda no local 1, o fator principal manejo do N-fertilizante alterou os valores de pH, os teores de P, $S-SO_4^{2-}$, Mg, K e a saturação de bases (V%) do solo. Observa-se que a utilização de N-fertilizantes causou acidificação do solo, com redução nos valores de pH, nos teores de P, Mg, K e na saturação de bases do solo (Tabela 2.8). A absorção de cátions pelas raízes das plantas em solos intemperizados ocorre com a extrusão de prótons, acentuando o processo de

Figura 2.13 – Influência da interação do manejo do N-fertilizante e dos ciclos de soqueira da cana-de-açúcar nas quantidades de carbono orgânico do solo - COS (A), cálcio - Ca (B) e Hidrogênio + alumínio - H+Al (C) a 0-40 cm de profundidade, no local 1. As barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença ($p \leq 0,05$) entre os ciclos de soqueira dentro de cada manejo e letras minúsculas indicam diferenças ($p \leq 0,05$) entre os manejos dentro de cada ciclo de soqueira, ambos pelo teste t (LSD) a 5% de probabilidade.

Tabela 2.8 – Efeito dos fatores manejo do N-fertilizante e ciclos de soqueiras da cana-de-açúcar e sua interação no local 1, nas variáveis da análise química de fertilidade do solo, a 0-40 cm de profundidade

Fator	pH CaCl ₂	COS g dm ⁻³	P mg dm ⁻³	S-SO ₄ ² mg dm ⁻³	Ca mmol _c dm ⁻³	Mg mmol _c dm ⁻³	K mmol _c dm ⁻³	H+Al	V %
Local 1: 0-40 cm de profundidade									
Manejo (M)¹									
CONTR0	4,5 ± 0,1 a [†]	9,2 ± 1,2	9,0 ± 0,8 a	6,9 ± 1,8 c	9,7 ± 1,4	4,5 ± 0,6 a	1,7 ± 0,2 a	30 ± 3	35 ± 4 a
NA100	4,2 ± 0,1 bc	9,6 ± 1,1	6,8 ± 0,5 b	6,9 ± 1,2 c	7,6 ± 1,6	3,3 ± 0,6 c	1,4 ± 0,2 b	35 ± 2	26 ± 4 b
UR100	4,3 ± 0,1 b	9,4 ± 1,0	7,1 ± 0,4 b	6,8 ± 1,3 c	7,9 ± 1,7	3,8 ± 0,5 abc	1,4 ± 0,2 b	33 ± 2	27 ± 3 b
NAC50	4,2 ± 0,1 bc	9,4 ± 1,1	7,2 ± 0,3 b	7,9 ± 1,6 abc	8,2 ± 0,6	3,6 ± 0,2 c	1,4 ± 0,2 b	34 ± 3	28 ± 1 b
NAC100	4,2 ± 0,1 bc	8,5 ± 0,9	6,8 ± 0,6 b	8,4 ± 1,5 a	8,8 ± 0,9	4,4 ± 0,7 ab	1,1 ± 0,1 c	34 ± 3	29 ± 3 b
NAC150	4,2 ± 0,1 bc	8,7 ± 1,2	6,9 ± 0,6 b	8,2 ± 1,4 ab	8,5 ± 0,9	4,0 ± 0,6 abc	1,1 ± 0,1 c	35 ± 2	28 ± 3 b
NAC200	4,1 ± 0,1 c	8,5 ± 0,9	6,5 ± 1,0 b	8,2 ± 1,8 a	7,5 ± 0,9	3,6 ± 0,6 c	1,1 ± 0,1 c	36 ± 4	26 ± 3 b
Ciclos (C)									
1 ^o	4,2 ± 0,1 C ^{††}	10,1 ± 0,3	8,2 ± 0,5 A	5,4 ± 0,2 C	10,3 ± 0,4	4,2 ± 0,2 B	1,1 ± 0,1 C	36 ± 1	31 ± 1 B
2 ^o	4,3 ± 0,1 B	7,8 ± 0,2	7,0 ± 0,5 BC	6,6 ± 0,4 B	8,3 ± 0,5	3,4 ± 0,2 CD	1,3 ± 0,1 B	35 ± 1	27 ± 1 BC
3 ^o	4,3 ± 0,1 B	11,8 ± 0,2	7,4 ± 0,3 AB	6,6 ± 0,2 B	8,8 ± 0,5	3,6 ± 0,2 BC	1,6 ± 0,1 A	39 ± 2	27 ± 1 C
4 ^o	4,0 ± 0,1 D	8,5 ± 0,1	6,2 ± 0,5 C	6,5 ± 0,3 BC	5,1 ± 0,5	2,9 ± 0,2 D	1,4 ± 0,1 B	33 ± 1	22 ± 2 D
5 ^o	4,5 ± 0,1 A	7,0 ± 0,1	7,1 ± 0,4 ABC	12,8 ± 0,6 A	9,1 ± 0,5	5,4 ± 0,4 A	0,9 ± 0,1 D	26 ± 1	35 ± 2 A
<i>Valor de p</i>									
p M	<0,001	<0,001	0,014	0,026	0,042	0,024	<0,001	0,002	<0,001
p C	<0,001	<0,001	0,017	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p M x C	0,957	<0,001	0,397	0,947	0,022	0,619	0,299	0,022	0,106

¹ Manejo do N-fertilizante: CONTR0= controle; NA100: nitrato de amônio (100 kg ha⁻¹ de N); UR100: Ureia (100 kg ha⁻¹ de N); NAC50, NAC100, NAC150 e NAC200: Nitrato de amônio e cálcio (50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ de N). [†] Média ± erro padrão da média (n=20) seguida por letras minúscula distintas na coluna indicam diferenças para o fator manejo ($p \leq 0,05$) pelo teste t (LSD). ^{††} Média ± erro padrão da média (n=28) seguida por letra maiúscula distinta na coluna indicam diferenças para o fator ciclos de soqueira ($p \leq 0,05$) pelo teste t (LSD).

acidificação do solo (FUJII et al., 2008; ZHANG et al., 2016). Assim, a utilização de N na adubação promove maior crescimento vegetativo das plantas, com consequente aumento na extração de nutrientes (principalmente catiônicos), o que resulta em maior liberação de prótons ao solo e redução no pH (Tabela 2.8). Zhang et al. (2016) mostraram, por exemplo, que a cultura do tabaco (*Nicotiana tabacum*) removeu em geral 339,23 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de bases catiônicas do solo, quantidade essa 7,6 vezes maior que a quantidade de ânions removidas pela cultura, o que poderia resultar, segundo os autores, na produção de 12,52 kmol H⁺ ha⁻¹ ano⁻¹. Além disso, a nitrificação é uma importante fonte da acidez do solo uma vez que a oxidação do NH₄⁺ a NO₃⁻ gera prótons H⁺, que implicam em redução no pH do solo (PETERS et al., 2011). Justamente por esses mecanismos, a adubação com nitrogênio amoniacal (N-NH₄⁺) tem a capacidade de promover elevada produção de H⁺ e intensificar a acidificação do solo (MALHI et al., 2000; CHIEN; GEARHART; COLLAMER, 2008; HAN et al., 2015). Várias pesquisas têm mostrado que a aplicação de N mineral ao solo por um longo prazo eleva sua acidez e diminui o pH do solo (RASMUSSEN; ROHDE, 1989, BARAK et al., 1997; CHIEN; GEARHART; COLLAMER, 2008). Dessa forma, o tratamento não fertilizado preserva maiores quantidades de nutrientes no solo, devido a menor produção de biomassa e extração de nutrientes, mantendo os níveis de fertilidades elevados por mais tempo.

Após a colheita da primeira e da quarta soqueira da cana-de-açúcar nos dois locais, observou-se elevada redução nos valores de pH do solo, provavelmente impulsionados pela elevada produtividade de colmos, que demandou grande extração de nutrientes e provocou a necessidade de aplicação de calagem após o corte destas soqueiras. A aplicação de calcário e gesso em soqueiras de cana-de-açúcar é uma prática recomendada, embora não muito comum (PENATTI, 2013). Ainda assim, esta prática é muito importante, visto que a acidificação do solo pode trazer muitos problemas, como acelerar o acúmulo de Al tóxico, Mn e outros metais pesados no solo (BOLAN; ADRIANO; CURTIN, 2003; WANG et al., 2006), causar redução da biodiversidade e na produtividade do ecossistema (ROUSK et al., 2010; CHEN et al., 2013) e reduzir a eficiência de uso dos fertilizantes (SCHRODER et al., 2011; DUAN et al., 2011).

No local 2 não houve interação entre o manejo do N-fertilizante e os ciclos de soqueiras de cana-de-açúcar para as variáveis da análise química do solo, enquanto o fator principal manejo do N-fertilizante influenciou os valores de pH, os teores de

P, Mg, K, H+Al e V% do solo (Tabela 2.9). A utilização de fontes nitrogenadas também gerou redução no pH do solo, maior extração de nutrientes, maior redução na saturação de bases e maior quantidade de H+Al, contudo este efeito foi menos pronunciado que no local 1, cujos valores foram mais evidentes e perceptíveis. O NA100 e o NAC150 foram responsáveis pela maior acidificação do solo, impulsionado pela maior produção de biomassa e extração de nutrientes. A redução nos teores de K com a utilização de N e com o aumento nas doses de N, nos dois locais, pode ser resultado do maior acúmulo de nutrientes (local 2) ou mesmo da lixiviação de K para camadas mais profundas. As reduções dos teores de K com o aumento das doses de N contribuem, conseqüentemente, para a redução da saturação de bases, bem como para a redução dos níveis de fertilidade do solo.

Em ambos os locais o fator ciclos de soqueira influenciou as variáveis da análise de fertilidade do solo, com exceção para o teor de P no local 2 (Tabela 2.8 e 2.9). Nos dois locais os resultados deixam claro que a calagem realizada após o corte do primeiro e quarto ciclos de soqueira e a gessagem realizada após o quarto ciclo, trouxeram resultados positivos ao solo, como aumento do pH, dos teores de S, Mg e da saturação de bases na camada de 0-40 cm de profundidade. Isso porque, de modo geral, os piores índices de fertilidade foram obtidos na primeira e quarta soqueiras, com melhorias no ano seguinte após a correção do solo.

A acidificação do solo induzida pelo cultivo contínuo de cana-de-açúcar ao longo do período compreendido entre o plantio e a renovação do canavial (cerca de 6 anos) é um dos principais problemas em muitos solos brasileiros. Por isso, a adequada correção do solo no momento da renovação do canavial é imprescindível para alcançar elevados rendimentos em produtividade da cultura.

Tabela 2.9 – Efeito dos fatores manejo do N-fertilizante e ciclos de soqueiras da cana-de-açúcar e sua interação no local 2, nas variáveis da análise química de fertilidade do solo, a 0-40 cm de profundidade

Fator	pH CaCl ₂	COS g dm ⁻³	P mg dm ⁻³	S-SO ₄ ² mg dm ⁻³	Ca	Mg mmol _c dm ⁻³	K	H+Al	V %
Local 2: 0-40 cm de profundidade									
Manejo (M)¹									
CONTR0	4,9 ± 0,1 a	7,5 ± 0,1	6,8 ± 0,1 bc	6,5 ± 0,5	12,0 ± 0,4	4,9 ± 0,2 ab	1,5 ± 0,1 a	21 ± 1 d	48 ± 1 a
NA100	4,6 ± 0,1 d	7,6 ± 0,1	6,6 ± 0,2 c	7,8 ± 0,5	9,7 ± 0,2	3,5 ± 0,1 c	1,1 ± 0,1 c	24 ± 1 ab	38 ± 1 d
UR100	4,8 ± 0,1 abc	7,9 ± 0,1	6,0 ± 0,1 c	6,6 ± 0,5	11,7 ± 0,3	4,3 ± 0,1 bc	1,1 ± 0,1 c	22 ± 1 cd	44 ± 1 abc
NAC50	4,8 ± 0,1 ab	7,7 ± 0,2	8,3 ± 0,3 a	5,5 ± 0,2	13,2 ± 0,7	5,3 ± 0,1 a	1,3 ± 0,1 ab	22 ± 1 bcd	47 ± 1 ab
NAC100	4,7 ± 0,1 bcd	7,3 ± 0,2	8,2 ± 0,3 ab	7,4 ± 0,5	11,4 ± 0,4	4,1 ± 0,1 bc	1,2 ± 0,1 bc	23 ± 1 abc	42 ± 1 bcd
NAC150	4,6 ± 0,1 cd	7,9 ± 0,2	7,0 ± 0,2 abc	7,0 ± 0,4	11,2 ± 0,5	3,8 ± 0,1 c	1,2 ± 0,1 bc	25 ± 1 a	40 ± 1 cd
NAC200	4,8 ± 0,1 abc	7,5 ± 0,2	7,1 ± 0,4 abc	7,6 ± 0,6	12,2 ± 0,5	5,3 ± 0,4 a	1,1 ± 0,1 bc	22 ± 1 bcd	46 ± 1 ab
Ciclos (C)									
2 ^o	4,8 ± 0,1 A	7,4 ± 0,2 C	7,4 ± 0,5	10,0 ± 0,6 A	13,8 ± 0,8 A	4,4 ± 0,2 B	1,6 ± 0,1 A	24 ± 1 B	44 ± 2 A
3 ^o	4,7 ± 0,1 A	8,5 ± 0,2 A	7,5 ± 0,4	4,7 ± 0,2 C	12,0 ± 0,4 B	4,0 ± 0,2 B	1,4 ± 0,1 B	27 ± 1 A	39 ± 1 B
4 ^o	4,5 ± 0,1 B	7,9 ± 0,2 B	6,6 ± 0,3	5,5 ± 0,4 C	12,0 ± 0,7 B	4,2 ± 0,3 B	1,2 ± 0,1 C	23 ± 1 C	44 ± 2 A
5 ^o	4,8 ± 0,1 A	6,7 ± 0,1 D	7,1 ± 0,5	7,4 ± 0,4 B	8,7 ± 0,3 C	5,3 ± 0,4 A	0,7 ± 0,1 D	16 ± 1 D	47 ± 1 A
<i>Valor de p</i>									
<i>p</i> M	0,007	0,285	0,022	0,056	0,074	<0,001	0,001	0,002	0,001
<i>p</i> C	<0,001	<0,001	0,321	<0,001	<0,001	0,004	<0,001	<0,001	0,003
<i>p</i> M x C	0,902	0,826	0,078	0,652	0,654	0,081	0,071	0,555	0,9804

¹ Manejo do N-fertilizante: CONTR0= controle; NA100: nitrato de amônio (100 kg ha⁻¹ de N); UR100: Ureia (100 kg ha⁻¹ de N); NAC50, NAC100, NAC150 e NAC200: Nitrato de amônio e cálcio (50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ de N). [†] Médias ± erro padrão das médias (n=16) seguidas por letras distintas na coluna indicam diferenças para o fator manejo (ANOVA) a *p* ≤ 0,05. ^{††} Médias ± erro padrão das médias (n=28) seguidas por letras distintas na coluna indicam diferenças para o fator ciclos de soqueira (ANOVA) a *p* ≤ 0,05.

2.4 Conclusões

O manejo do N-fertilizante indica que as fontes NA100 e NAC100 são as mais viáveis em termos de rendimento de colmos e de açúcar, no cultivo de quatro ciclos de soqueiras no local 2. Entretanto, o local 1 não se mostrou responsivos à adubação nitrogenada, indicando que outras fontes de N, que não a adubação nitrogenada, são suficientes para manter o crescimento da cana-de-açúcar, naquelas condições, durante o período de cinco anos.

O aumento nas doses de N aumenta a extração do nutriente pelas plantas, embora isso não reflita necessariamente em aumento da produção de biomassa seca das plantas, indicando possível consumo de luxo do N pela cana-de-açúcar.

O balanço parcial de macronutrientes no sistema, nas condições em que estes estudos foram desenvolvidos, revela que mesmo com a manutenção da palha no sistema, há déficit de K nos dois locais, além de déficit de N quando a adubação com o nutriente foi menor que 100 kg ha⁻¹ no local 1 e 150 kg ha⁻¹ no local 2. Além disso, a remoção da palha torna esses déficits ainda mais negativos, gerando perda líquida de N, K, P (local 1) e S (local 2).

A maior extração de nutrientes, obtida geralmente com os manejos NAC100, NAC150 e NAC200, tende a exaurir mais rapidamente o solo, com redução nos níveis de fertilidade, indicadas pela maior acidez, menor quantidade de base trocáveis no solo e maior teor de H+Al. Por outro lado, a menor produção de biomassa seca e extração de nutrientes, obtidas no tratamento controle, mantem os atributos químicos do solo em melhor nível de fertilidade e por mais tempo.

Referências

- ABREU, M.L.; SILVA, M.A.; TEODORO, I.; HOLANDA, L.A.; SAMPAIO NETO, G.D. Crescimento e produtividade de cana-de-açúcar em função da disponibilidade hídrica dos tabuleiros costeiros de Alagoas. **Bragantia**, Campinas, v. 72, p. 262-270, 2013.
- ALLISON, J.C.S.; PAMMENTER, N.W.; HASLAM, R.J. Why does sugarcane (*Saccharum* sp. Hybrid) grow slowly? **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 73, p. 546-551, 2007.
- BARAK, P.; JOBE, B.O.; KREUGER, A.R.; PETERSON, L.A.; LAIRD, D.A. Effects of long-term soil acidification due to nitrogen fertilizer inputs in Wisconsin. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 197, p. 61–69, 1997.

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

BEAUCLAIR, E.G.F.; SCARPARI, M.S. Noções fitotécnicas. In: RIPOLI, T.C.C.; RIPOLI, M.L.C.; CASAGARNDI, D.; IDE, B.Y. **Plantio de cana-de-açúcar**: estado da arte. Piracicaba: Barros & Marques Editoração Eletrônica, 2016, 216 p.

BIANCHINI, A.; VALADÃO JUNIOR, D.D.; ROSA, R.P.; COLHADO, F.; DAROS, R.F. Soil chiseling and fertilizer location in sugarcane ration cultivation. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 34, p. 57-65, 2014.

BINDRABAN, P.S.; STOORVOGEL, J.J.; JANSEN, D.M.; VLAMING, J.; GROOT, J.J.R. Land quality indicators for sustainable land management: proposed method for yield gap and soil nutrient balance. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 81, p. 103-112, 2000.

BLAKE, G.R.; HARTGE, K.H. Bulk density. In: KLUTE, A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2nd ed. Madison: ASA; SSSA, 1986. pt. 1: Physical and mineralogical methods, p. 363-376. (Agronomy Series, 9).

BOLAN, N.S.; ADRIANO, D.C.; CURTIN, D. Soil acidification and liming interactions with nutrient and heavy metal transformation and bioavailability. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 78, p. 215-272, 2003.

BOLOGNA-CAMPBELL, I. **Balanço de nitrogênio e enxofre no sistema solo-cana-de-açúcar no ciclo de cana-planta**. 2007. 112 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.

BOLOGNA-CAMPBELL, I.; FRANCO, H.C.J.; VITTI, A.C.; FARONI, C.E.; COSTA, M.C.G.; TRIVELIN, P.C.O. Impact of nitrogen and sulphur fertilisers on yield and quality of sugarcane plant crop. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 15, p. 424-428, 2013.

CAMPOS, L.H.F.; CARVALHO, S.J.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; FORTES, C.; SILVA, J.S. Sistemas de manejo da palhada influenciam acúmulo de biomassa e produtividade da cana-de-açúcar (var. RB855453). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 32, p. 345-350, 2010.

CANÇADO, J.E.D.; SALDIVA, P.H.N.; PEREIRA, L.A.A.; LARA, L.B.L.S.; ARTAXO, P.; MARTINELLI, L.A.; ARBEX, M.A.; ZANOBETTI, A.; BRAGA, A.L.F. The impact of sugar cane-burning emissions on the respiratory system of children and the elderly. **Environmental Health Perspectives**, Philadelphia, v. 114, p. 735-729, 2006.

CANELLAS, L.P.; BUSATO, J.G.; BOBBSS, L.B.; BALDOTTO, M.A.; RUMJANEK, V.M.; OLIVARES, F.L. Soil organic matter and nutrient pools under long-term non-burning management of sugar cane. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 61, p. 375-383, 2010.

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

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

CENTRO DE PESQUISAS METEOROLOGICAS E CLIMATICAS APLICADAS A AGRICULTURA – CEPAGRI, 2016. Disponível em: http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima_muni_381.html. Acesso em 25 de fevereiro de 2016.

CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA. Terceira geração de cultivares CTC. Piracicaba, 2007, 19 p. (Boletim técnico, 2).

CERRI, C.E.P.; GALDOS, M.V.; CARVALHO, J.L.N.; FEIGL, B.J.; CERRI, C.C. Quantifying soil carbon stocks and greenhouse gas fluxes in the sugarcane agrosystem: point of view. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, p. 361-368, 2013.

CHAPMAN, L.S.; HAM, G.; HUNEY, A.P.; SANDERS, D.H.; LEONARD, G.J. Preliminary evaluation of field factors affecting amino acids in sugarcane juice. **Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technologist**, Mackay, v. 18, p. 213-221, 1996.

CHAPMAN, L.S.; HAYSOM, M.B.C.; SAFFIGNA, P.G. The recovery of ^{15}N from labeled urea fertilizer in crop component of sugarcane and in soil profiles. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 45, p. 1577-1585, 1994.

CHEN, D.; LAN, Z.; BAI, X.; GRACE, J.B.; BAI, Y. Evidence that acidification-induced declines in plant diversity and productivity are mediated by changes in below-ground communities and soil properties in a semi-arid steppe. **Journal of Ecology**, Hoboken, v. 101, p. 1322–1334, 2013.

CHERUBIN, M.R. Soil quality response to land-use change for sugarcane expansion in Brazil. 2016. 199 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

CHIEN, S.H.; GEARHART, M.M.; COLLAMER, D.J. The effect of different ammonical nitrogen sources on soil acidification. **Soil Science**, Philadelphia, v. 173, p. 544–551, 2008.

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

COBO, J.G.; DERCON, G.; CADISCH, G. Nutrient balances in African land use systems across different spatial scales: A review of approaches, challenges and progress. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 136, p. 1-15, 2010.

COBO, J.G.; DERCON, G.; MONJE, C.; MAHEMBE, P.; GOTOSA, T.; NYMANGARA, J.; DELVE, R.J.; CADISCH, G. Cropping strategies, soil fertility investment and land management practices by smallholder farmers in communal and resettlement areas in Zimbabwe. **Land Degradation & Development**, Hoboken, v. 20, p. 492-508, 2009.

COELHO, C.A.S.; OLIVEIRA, C.P.; AMBRIZZI, T.; REBOITA, M.S.; CARPENEDO, C.B.; CAMPOS, J.L.P.; TOMAZIELLO, A.C.N.; PAMPUCH, L.A.; CUSTÓDIO, M.S.; DUTRA, L.M.M.; ROCHA, R.P. REHBEIN, A. The 2014 southeast Brazil austral summer drought: regional scale mechanism and teleconnections. **Climate Dynamics**, New York, v. 46, p. 3737-3752, 2016.

CONAB (2016) Companhia nacional de abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira. Cana-de-açúcar**. Safra 2016/17. Primeiro levantamento. Abril de 2016. Monitoramento Agrícola. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_04_18_14_27_15_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_16. Acesso em: 04 de agosto de 2016.

COSTA, A.R.F.C.; ROLIM, M.M.; BONFIM-SILVA, E.M.; SIMÕES NETO, D.E.; PEDROSA, E.R.M.; SILVA, E.F.F. Accumulation of nitrogen, phosphorus and potassium in sugarcane cultivated under different types of water management and doses of nitrogen. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 10, p. 362-369, 2016.

COSTA, L.G.; MARIN, F.R.; NASSIF, D.S.P.; PINTO, H.M.S.; LOPES-ASSAD, M.L.R.C. Simulação do efeito do manejo da palha e do nitrogênio na produtividade da cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, p. 469-474, 2014.

COSTA, M.C.G.; VITTI, G.C.; CANTARELLA, H. Volatilização de N-NH₃ de fontes nitrogenadas em cana-de-açúcar colhidas sem despalha a fogo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 631-637, 2003.

CRISTALE, J.; SILVA, F.S.; ZOCCOLO, G.J.; MARCHI, M.R.R. Influence of sugarcane burning on indoor/outdoor PAH air pollution in Brazil. **Environmental Pollution**, Oxford, v. 169, p. 210-216, 2012.

DEFOER, T.; GROOTE, H.; HILHORST, T.; KANTE, S.; BUDELMAN, A. Participatory action research and quantitative analysis for nutrient management in Southern Mali: a fruitful marriage? **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 71, p. 215-228, 1998.

DELGADILLO-VARGAS, O.; GARCIA-RUIZ; FORERO-ÁLVAREZ, J. Fertilising techniques and nutrient balances in the agriculture industrialization transition: The case of sugarcane in the Cauca river valley (Colombia), 1943–2010. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 218, p. 150-162, 2016.

DONALDSON, R.A.; REDRSHAW, K.A.; RHODES, R.; ANTWERPEN, R. Van. Season effects on productivity of some commercial south African sugarcane cultivars, I: Biomass and radiation use efficiency. **Proceedings of the Annual Congress – South African Sugar Technologists' Association**, Durban, v. 81, p. 517-527, 2008.

DOURADO-NETO, D.; POWLSON, D.; ABU BAKAR, R.; BACCHI, O.O.S.; BASANTA, M.V.; CONG, P.T.; KEERTHISINGHE, G.; ISMAILI, M.; RAHMAN, S.M.; REICHARDT, K.; SAFWAT, M.S.A.; SANGAKKARA, R.; TIMM, C.; WANG, J.Y.; ZAGAL, E.; KESSEL, C. VAN. Multiseason recoveries of organic and inorganic nitrogen-15 in tropical cropping systems. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 74, p. 139-152, 2010.

DUAN, Y.; XU, M.; WANG, B.; YANG, X.; HUANG, S.; GAO, S. Long-term evaluation of manure application on maize yield and nitrogen use efficiency in China. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 75, p. 1562–1573, 2011.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. Brasília: Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 2013. 353 p.

ESCOBAR, J.C.; LORA, E.S.; VENTURINI, O.J.; YÁÑEZ, E.E.; CASTILLO, E.F. Biofuels: environment, technology and food security. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, Oxford, v. 13, p. 1275-1287, 2009.

SPIRONELLO, A.; RAIJ, B. van; PENATTI, C.P.; CANTARELLA, H.; MORELLI, J.L.; ORLANDO FILHO, J.; LANDELL, M.G.A.; ROSSETTO, R. Cana-de-açúcar. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Fundação IAC, 1997. p. 237-239. (IAC. Boletim Técnico, 100).

FERNANDES, A.C. **Cálculos na agroindústria de cana-de-açúcar**. 2. ed. Piracicaba: STAB, 2003. 240p.

FERREIRA, D.A.; FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; VITTI, R.; FORTES, C.; FARONI, C.E.; GARSIDE, A.L.; TRIVELIN, P.C.O. Contribution of N from green harvest residues for sugarcane nutrition in Brazil. **Global Change Biology Bioenergy**, Hoboken, v. 8, p. 859-866, 2016.

FORTES, C. **Produtividade de cana-de-açúcar em função da adubação nitrogenada e da decomposição da palhada em ciclos consecutivos**. 2010. 153 p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

FORTES, C.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C. Long-term decomposition of sugarcane harvest residues in Sao Paulo state, Brazil. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v. 42, p. 189-198, 2012.

FORTES, C.; VITTI, A.C.; OTTO, R.; FERREIRA, D.A.; FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O. Contribution of nitrogen from sugarcane harvest residues and urea for crop nutrition. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, p. 313-320, 2013.

FRANCO, H.C.J.; VITTI, A.C.; FARONI, C.E.; CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O. Estoque de nutrientes em resíduos culturais incorporados ao solo na reforma do canavial. **STAB – Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 25, p. 249-256, 2007.

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

FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; VITTI, A.C.; FARONI, C.E.; OLIVEIRA, E.C.A.; FORTES, C.; FERREIRA, D.A.; KÖLLN, O.T.; GARSIDE, A.L.; TRIVELIN, P.C.O. Residual recovery and yield performance of nitrogen fertilizer applied at sugarcane planting. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 72, p. 528-534, 2015.

FUJII, K.; FUNAKAWA, S.; HAYAKAWA, C.; KOSAKIM T. Contribution of different proton sources to pedogenetic soil acidification in forested ecosystems in Japan. **Geoderma**, Amsterdam, v. 144, p. 478-490, 2008.

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

GAVA, G.J.C. Utilização do nitrogênio da ureia (^{15}N) e da palhada (^{15}N) por soqueira de cana-de-açúcar no manejo sem despalha a fogo. 1999. 81 p. Dissertação (Mestrado na área de Energia Nuclear da Agricultura) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

GAVA, G.J.C.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, M.W. Recuperação do nitrogênio (^{15}N) da ureia e da palhada por soqueira de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 621-630, 2003.

GEE, G.W.; BAUDER, J.M. Particle-size analysis. In: KLUTE, A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2nd ed. Madison: ASA; SSSA, 1986. pt. 1: Physical and mineralogical methods, p. 383-411. (Agronomy Series, 9).

GODSHALL, M. A. Removal of colorants and polysaccharides and the quality of white sugar. In: ASSOCIATION A.V.H. 6^o SYMPOSIUM, Reims. p.28-35, 1999.

GOLDEMBERG, J. Ethanol for a sustainable energy future. **Science**, New York, v. 315, p. 808-810, 2007.

GUIMARÃES, E.R.; MUTTON, M.A.; MUTTON, M.J.R.; FERRO, M.I.T.; RAVANELI, G.C.; SILVA, J.A. Free proline accumulation in sugarcane under water restriction and spittlebug infestation. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, p. 628-633, 2008.

HAILESLASSIE, A.; PRIESS, J.; VELDKAMP, E.; TEKETAY, D.; LESSCHAN, J.P. Assessment of soil nutrient depletion and its spatial variability on smallholders' mixed farming systems in Ethiopia using partial versus full nutrient balances. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 108, p. 1-16, 2005.

HAN, J.P.; SHI, J.C.; ZENG, L.Z.; XU, J.M.; WU, L.S. Effects of nitrogen fertilization on the acidity and salinity of greenhouse soils. **Environmental Science and Pollution Research**, Heidelberg, v. 22, p. 2976-2986, 2015.

HARTEMINK, A.E.; Assessing soil fertility decline in the tropics using soil chemical data. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 89, p. 179-225, 2006.

HARTT, C.E.; BURR, G.O. Factors affecting photosynthesis in sugar cane. Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists, 12th Congress. 1967. **Proceedings**, Porto Rico, 1967, p. 590-609.

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

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

IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. **Climate change 1994**: radiative forcing of climate change and an evaluation of the IPCC IS92 emission scenarios. Cambridge: Cambridge University Press., 1995. 339 p.

JANZEN, H.H.; KUCEY, R.M.N. C, N, and S mineralization of crop residues as influenced by crop species and different regime. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 106, p. 35-41, 1988.

KATTERER, T.; REICHSTEIN, M.; ANDRÉN, O.; LOMANDER, A. Temperature dependence of organic matter decomposition: a critical review using literature data analyzed with different models. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 27, p. 258-262, 1998.

KEATING, B.A.; KINGSTON, G.; WOOD, A.W.; BERDING, N.; MUCHOW, R.C. Monitoring nitrogen at the mill to guide N fertilization practice in farm. **Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technologist**, Mackay, v. 21, p. 10-19, 1999.

KINGSTON, G. Mineral Nutrition of Sugarcane. In: MOORE, P.H.; BOTHA, F.C. (Eds) **Sugarcane Physiology, Biochemistry and Functional Biology**. 1^a Ed. New York: Willey, 2014, p. 85-120.

LAL, R.; FOLLETT, R.F.; KIMBLE, J.; COLE, C.V. Managing U.S. cropland to sequester carbon in soil. **Journal of Soil and Water Conservation**, Ankeny, v. 54, p. 374, 381, 1999.

LEITE, J.M. **Eficiência agrônômica da adubação nitrogenada associada à aplicação de substâncias húmicas em cana-de-açúcar**. 2015. 130 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

LEITE, J.M.; CIAMPITTI, I.A.; MARIANO, E.; VIEIRA-MEGDA, M.; TRIVELIN, P.C.O. Nutrient partitioning and stoichiometry in unburnt sugarcane ratoon at varying yield levels. **Frontiers in Plant Science**, Lausana, v. 7, artigo nº 466 [online], 2016.

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

MALHI, S.S.; HARAPIAK, J.T.; NYBORG, M.; GILL, K.S. Effects of long-term applications of various nitrogen sources on chemical soil properties and composition of brome grass hay. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 23, p. 903–912, 2000.

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

MARIANO, E.; TRIVELIN, P.C.O.; VIEIRA, M.X.; LEITE, J.M.; OTTO, R.; FRANCO, H.C.J. Ammonia losses estimated by an open collector from urea applied to sugarcane straw. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, p. 411-419, 2012.

MARIANO, E.; LEITE, J.M.; VIEIRA-MEGDA, M.X.; CIAMPITTI, I.A.; VITTI, A.C.; FARONI, C.E.; FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O. Biomass and nutrient content as sugarcane as affected by fertilizer nitrogen sources. **Crop Science**, Madison, v. 56, p. 1234-1244, 2016.

MARIN, F.R.; THORBURN, P.J.; COSTA, L.G.; OTTO, R. Simulating long-term effects of trash management on sugarcane yield for Brazilian cropping systems. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 16, p. 164-173, 2014.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3rd ed. London: Academic Press, 2012. 651 p.

MELLO, F.F.C.; CERRI, C.E.P.; DAVIES, C.A.; HOLBROOK, N.M.; PAUSTIAN, K.; MAIA, S.M.F.; GALDOS, M.V.; BERNOUX, M.; CERRI, C.C. Payback time for soil carbon and sugar-cane ethanol. **Nature Climate Change**, London, v. 4, p. 605-609, 2014.

MEYER, J.; SCHMANN, A.; WOOD, R.; NIXON, D.; VAN DEN BERG, M. Recent advances to nitrogen use efficiency of sugarcane in the South African sugar industry. **Proceeding International Society Sugar Cane Technology**, Veracruz, v. 26, p. 238-246, 2007.

MUCHOW, R.C.; ROBERTSON, M.J. Relating crop nitrogen uptake to sugarcane yield. **Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technologist**, Mackay, v. 16, p. 122-130, 1994.

NG KEE KWONG, K.F.; DEVILLE, J.; CAVALOT, P.C.; RIVIÉRE, V. Value of cane trash in nitrogen nutrition of sugarcane. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 102, p. 79-83, 1987.

NI, K.; PACHOLSKI, A.; KAGE, H. Ammonia volatilization after application of urea to winter wheat over 3 years affected by novel urease and nitrification inhibitors. **Agriculture Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 197, p. 184-194, 2014.

OECD (2015) Food and agriculture organization of the United Nations. **OECD-FAO agricultural outlook 2015-2024**. OECD Publishing, Paris, 2015. 143 p. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i4738e.pdf>. Acesso: 10 de agosto de 2016.

OLIVEIRA, A.P.P.; THORBURN, P.J.; BIGGS, J.S.; LIMA, E.; ANJOS, L.H.C.; PEREIRA, M.G.; ZANOTTI, N.E. The response of sugarcane to trash retention and nitrogen in the Brazilian coastal tablelands: a simulation study. **Experimental Agriculture**, New York, v. 52, p. 69-86, 2016.

OLIVEIRA, E.C.A. **Balanço nutricional da cana-de-açúcar relacionada à adubação nitrogenada**, 2011. 213 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

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

OLIVEIRA, M.W.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; PENATTI, C.P. Degradação da palhada de cana-de-açúcar. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, [online], v. 56, 1999.

ORLANDO FILHO, J.; BITTENCOURT, V.C.; ALVES, M.C. Aplicação de vinhaça em solos arenosos do Brasil e poluição do lençol freático com nitrogênio. **STAB - Açúcar, Alcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.13, p.14-16, 1995.

ORLANDO FILHO, J.; RODELLA, A.A.; BELTRAME, J.Á.; LAVORENTI, N.A. Doses, fontes e formas de aplicação de nitrogênio em cana-de-açúcar. **STAB - Açúcar Alcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 17, p. 39–41, 1999.

OTTO, R.; MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A.; TRIVELIN, P.C.O. Quantifying soil nitrogen mineralization to improve fertilizer nitrogen management of sugarcane. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 49, p. 839-904, 2013.

OTTO, R.; CASTRO, S.A.Q.; MARIANO, E.; CASTRO, S.G.Q.; FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O. Nitrogen Use Efficiency for Sugarcane-Biofuel Production: What Is Next? **Bioenergy Research**, New York, [online], p. 1-18, 2016.

PENATTI, C. P. **Adubação da cana-de-açúcar - 30 anos de experiência**. 1. ed. Itu, SP, Brasil: Editora Ottoni, 2013. 347p

PETERS, G.M.; WIEDEMANN, S.; ROWLEY, H.V.; TUCKER, R.; FEITZ, A.J.; SCHULZ, M. Assessing agricultural soil acidification and nutrient management in life cycle assessment. **International Journal of Life Cycle Assessment**, Heidelberg, v. 16, p. 431-441, 2011.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001. 285 p.

RAKKIYAPPAN, P.; THANGAVELU, S.; BHAGYALAKSMI, K.V.; RADHAMANI, R. Uptake of nitrogen, phosphorus and potassium by soma promising mid late maturing sugarcane clones. **Sugar Tech**, New Delhi, v.9, p. 21–27, 2007.

RASIAH, V.; ARMOUR, J.D.; MENZIES, N.W.; HEINER, D.H.; DONN, M.J.; MAHENDRARAJAH, S. Nitrate retention under sugarcane in wet tropical Queensland deep soil profiles. **Australian Journal of Soil Research**, Victoria, v. 41, p. 1145-1161, 2003.

RASMUSSEN, P.E.; ROHDE, C.R. Soil acidification from ammonium nitrogen fertilization in moldboard plow and stubble-mulch wheat–fallow tillage. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 53, p. 119–122, 1989.

RAVANELI, G.C.; MADALENO, L.L.; PRESOTTI, L.E.; MUTTON, M.A.; MUTTON, M.J.R. Spittlebug infestation in sugarcane affects ethanolic fermentation. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, p. 534-539, 2006.

RESENDE, A.S.; SANTOS, A.; XAVIER, R.P.; COELHO, C.H.; GONDIM, A.; OLIVEIRA, O.C.; ALVEZ, B.J.R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. Efeito da queima da palhada da cana-de-açúcar e de aplicações de vinhaça e adubo nitrogenado em características tecnológicas da cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 937-941, 2006.

REYNOLDS, H.L.; D'ANTONIO, C. The ecological significance of plasticity in root weight ratio in response to nitrogen: opinion. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 185, p. 75-97, 1996.

RIPOLI, T.C.; MOLINA JUNIOR, W.F.; STUPIELLO, J.P.; NOGUEIRA, M.C.; SACCOMANO, J.B. Potencial Energetico de Residuos de Cosecha de la caña verde. **STAB – Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 10, p. 22-28, 1991.

ROBERTSON, F.A.; THORBURN, P.J. Management of sugarcane harvest residue: consequences for soil carbon and nitrogen. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 45, p. 13-23, 2007.

ROBINSON, N.; VOGT, J.; LAKSHMANAN, P.; SCHMIDT, S. Nitrogen physiology of sugarcane. In: MOORE, P.H.; BOTHA, F.C. (Eds) **Sugarcane Physiology, Biochemistry and Functional Biology**. 1ª Ed. New York: Willey, 2014, p. 169-195.

ROBINSON, N.; BRACKIN, R.; VINALL, K.; SOPER, F.; HOLST, J.; GAMAGE, H.; PAUNGFOO-LONHIENNE, C.; RENNENBERG, H.; LAKSHMANAN, P.; SCHMIDT, S. Nitrate paradigm does not hold up for sugarcane. **Plos One**, São Francisco, v. 6, p. e19045, 2011.

ROCHA, G.J.M.; GONÇALVES, A.R.; OLIVEIRA, B.R.; OLIVARES, E.G.; ROSSELL, C.E.V. Steam explosion pretreatment reproduction and alkaline delignification reactions performed on a pilot scale with sugarcane bagasse for bioethanol production. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 35, p. 274-279, 2012.

ROSSETTO, R.; DIAS, F.L.F.; VITTI, A.C.; CANTARELLA, H. Fertility maintenance and soil recovery in sugarcane crops. In: CORTEZ, L.A.B. (Ed.). **Sugarcane bioethanol R&D for productivity and sustainability**. São Paulo: Blucher, 2010a. p.381-403.

ROSSETTO, R.; DIAS, F.L.F.; LANDELL, M.G.A.; CANTARELLA, H.; TAVARES, s.; VITTI, A.C.; PERECIN, D. N and K fertilization of sugarcane ratoons harvested without burning, **Proceedings International Society of Sugar Cane Technologists**, Veracruz, v. 27, p. 1-8, 2010b.

ROUSK, J.; BAATH, E.; BROOKES, P.C.; LAUBER, C.L.; LOZUPONE, L.; CAPORADO, J.G.; KNIGHT, R.; FIERER, N. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. **ISME Journal**, London, v. 4, p. 1340-1351, 2010.

SATTOLO, T.M.S. **Adubação nitrogenada em cana-de-açúcar: efeitos na fertilidade do solo, transformações microbianas e estoques de carbono e nitrogênio**. 2016. 117 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

SCHRODER, J.L.; ZHANG, H.; GIRMA, K.; RAUN, W.R.; PENN, C.J.; PAYTON, M.E. Soil acidification from long-term use of nitrogen fertilizers on winter wheat. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 75, p. 957–964, 2011.

SCHULTZ, N.; DA SILVA, J.A.; SOUZA, J.S.; MONTEIRO, R.C.; OLIVEIRA, R.P.; CHAVES, V.A.; PEREIRA, W.; DA SILVA, M.F.; BALDINI, J.I.; BODDEY, R.M.; REIS, V.M.; URQUIAGA, S. Inoculation of sugarcane with diazotrophic bacteria. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 38, p. 407-414, 2014.

SEVILLA, M.; BURRIS, R.H.; GUNAPALA, N.; KENNEDY, C. Comparison of benefit to sugarcane plant growth and $^{15}\text{N}_2$ incorporation following inoculation of sterile plants with *Acetobacter diazotrophicus* wild-type and Nif⁻ mutant strains. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Sant Paul, p. 14, v. 358-366, 2001.

SHOEMAKER, H.E.; McLEAN, E.O.; PRATT, P.F. Buffer methods for determining lime requirement of soils with appreciable amounts of extractable aluminium. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 25, p. 274-277, 1961.

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

SINGH, A.K.; LAL, M.; SINGH, S.N. Agronomic performance of new sugarcane genotypes under different planting geometries and N levels. **Indian Journal of Sugarcane Technology**, Uttar Pradesh, v. 26, p. 6-9, 2011.

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

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

SOIL SURVEY STAFF. **Keys to soil taxonomy**. 12th ed. Washington: USDA, Natural Resources Conservation Service, 2014. 372 p.

SOMMER, S.G.; ERSBOLL, A.K. Effect of air flow rate, lime amendments, and chemical soil properties on the volatilization of ammonia from fertilizers applied to Sandy soils. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 21, p. 53-60, 1996.

STOLF, R.; IAIA, A.M.; LEE, T.S.G. Índice de falhas segundo o método de STOLF: correlação com o rendimento agrícola em cana-planta. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v.104, p.44-50, 1986.

TASSO JÚNIOR, L.C.; MARQUES, M.O.; FRANCO, A.; NOGUEIRA, G.A.; NOBILE, F.O.; CAMILOTTI, F.; SILVA, A.R. Produtividade e qualidade de cana-de-açúcar cultivada em solo tratado com lodo de esgoto, vinhaça e adubos minerais. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 27, p. 276-283, 2007.

THORBURN; P.J.; HORAN, H.L.; BIGGS, J.S. The impact of trash management on sugarcane production and nitrogen management: a simulation study. **Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technologist**, Mackay, v. 26, CD-ROM, 2004.

THORBURN; P.J.; MEIER, E.A.; PROBERT, M.E. Modelling nitrogen dynamics in sugarcane systems: recent advances and applications. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 92, p. 337-351, 2005.

THORBURN; P.J.; MEIER, E.A.; COLLINS, K.; ROBERTSON, F.A. Changes in soil carbon sequestration, fractionation and soil fertility in response to sugarcane residue retention are site-specific. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 120, p. 99-111, 2012.

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

TRIVELIN, P.C.O.; RODRIGUES, J.C.S.; VICTORIA, R.L. Utilização por soqueiras de cana-de-açúcar de início de safra do nitrogênio da aquamônia- ^{15}N e ureia- ^{15}N aplicado ao solo em complemento à vinhaça. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 89-99, 1996.

TRIVELIN, P.C.O.; VICTORIA, R.L.; RODRIGUES, J.C.S. Aproveitamento por soqueira de cana-de-açúcar de final de safra do nitrogênio da aquamônia- ^{15}N e ureia- ^{15}N aplicado ao solo em complemento à vinhaça. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, p. 1375-1385, 1995.

TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, M.W.; GAVA, G.J.C.; SARRIÉS, G.A. Utilização de nitrogênio e produtividade da cana-de-açúcar (cana-planta) em solo arenoso com incorporação de resíduos da cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, p. 637-646, 2002.

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

URQUIAGA, S.; CRUZ, K.H.S.; BODDEY, R.M. Contribution of nitrogen fixation to sugar cane nitrogen-15 and nitrogen balance estimates. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 56, p. 105-114, 1992.

URQUIAGA, S.; XAVIER, R.P.; MORAIS, R.F.; BATISTA, R.B.; SCHULTZ, N.; LEITE, J.M.; SÁ, J.M.; BARBOSA, K.P.; RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. Evidence from field nitrogen balance and ^{15}N natural abundance data for the contribution of biological N_2 fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 356, p. 5-21, 2012.

VIDEIRA, S.S.; OLIVEIRA, D.M.; MORAIS, R.F.; BORGES, W.L.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. Genetic diversity and plant growth promoting traits of diazotrophic bacteria isolated from two *Pennisetum purpureum* Schum. genotypes grown in the field. **Plant and Soil**, Dordrecht, p. 356, v. 51-66, 2012.

VIEIRA-MEGDA, M.X. **Transformações do N derivado do fertilizante no solo e a eficiência de utilização pela cultura da cana-de-açúcar cultivada em solo coberto por palha**. 2013. 156 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

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

VINALL, K.; SCHMIDT, S.; BRACKIN, R.; LAKSHMANAN, P.; ROBINSON, N. Amino acids are a nitrogen source for sugarcane. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 39, p. 503-511, 2012.

VISCHI FILHO, O.J.; SOUZA, Z.M.; SILVA, R.B.; LIMA, C.C.; PEREIRA, D.M.G.; LIMA, M.E.; DOUZA, A.C.M.; SOUZA, G.S. Capacidade de suporte de carga de Latossolo Vermelho cultivado com cana-de-açúcar e efeitos da mecanização no solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, p. 322-332, 2015.

VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; PENATTI, C.P.; BOLOGNA, I.R.; FARONI, C.E.; FRANCO, H.C.J. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada ao nitrogênio residual da adubação e do sistema radicular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, p. 249-256, 2007.

VITTI, A.C.; FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O.; FERREIRA, D.A.; OTTO, R.; FORTES, C.; FARONI, C.E. Nitrogênio proveniente da adubação nitrogenada e de resíduos culturais na nutrição da cana-planta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, p. 287-293, 2011.

VITTI, G.C. **Avaliação e interpretação do enxofre no solo e na planta**. Jaboticabal: FUNEP, 1989. 37 p.

WANG, A.S.; ANGLE, J.S.; CHANEY, R.L.; DELORME, T.A.; REEVES, R.D. Soil pH effects on uptake of Cd and Zn by *Thlaspi caerulescens*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 281, p. 325-337, 2006.

WIEDENFELD, B.; ENCISO, J. Sugarcane responses to irrigation and nitrogen in semiarid South Texas. **Agronomy Journal**, Madison, v. 100, p. 665-671, 2008.

ZHANG, Y.; HE, X.; LIANG, H.; ZHAO, J.; ZHANG, Y.; XU, C.; SHI, X. Long-term tobacco plantation induces soil acidification and soil base cation loss. **Environmental Science and Pollution Research**, Heidelberg, v. 23, p. 5442-5450, 2016.

ZINN, Y.L.; LAL, R.; RESCK, D.V.S. Changes in soil organic carbon stocks under agriculture in Brazil. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 84, p. 28-40, 2005.

3 INFLUÊNCIA DA RELAÇÃO NITRATO/ AMÔNIO NO CRESCIMENTO, PRODUÇÃO, NUTRIÇÃO E METABOLISMO DA CANA-DE-AÇÚCAR

Resumo

O nitrato (NO_3^-) e o amônio (NH_4^+) são as principais formas de nitrogênio (N) absorvidas pelas plantas, podendo influenciar diretamente na produção das culturas. Embora haja relatos atuais de que a cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) tenha preferência de absorção pelo NH_4^+ , trabalhos mais antigos indicaram que a cultura pode ter desenvolvimento adequado com a disponibilidade de ambos os íons. Além disso, muitas espécies de plantas desenvolvem toxidez ou alguma limitação no desenvolvimento quando cultivadas somente com disponibilidade de NH_4^+ . Objetivou-se com este estudo avaliar as respostas da cana-de-açúcar cultivadas com suprimento exclusivo ou misto de NO_3^- e NH_4^+ como fontes de N. Mudanças de cana-de-açúcar, obtidas de mini-toletes da variedade comercial CTC15 foram germinadas em areia e posteriormente cultivadas em solução nutritiva com 15 mM de N nas proporções de $\text{N-NO}_3^-/\text{N-NH}_4^+$ de: 100/0, 75/25, 50/50, 25/75 e 0/100, por 163 dias. O pH do meio de cultivo foi mantido em $5,8 \pm 0,1$. Quando o NH_4^+ foi fornecido como fonte exclusiva de N as plantas apresentaram menor produção de biomassa seca, acúmulo de nutrientes e área foliar do que os outros tratamentos, provavelmente relacionado à ocorrência de ferrugem marrom nas folhas, afetando assim sua atividade fotossintética. Entretanto, não houve indícios de que o NH_4^+ esteja relacionado ao estresse oxidativo em plantas de cana-de-açúcar. A maior eficiência de uso de N foi obtida com o fornecimento exclusivo de NO_3^- , que também proporcionou maior produção de biomassa seca, área foliar, acúmulo de macronutrientes, atividade fotossintética, e crescimento do sistema radicular. O ponto negativo do fornecimento deste ânion é que as plantas de cana-de-açúcar, ao contrário do que ocorre com muitas espécies, não armazenam quantidade significativa de NO_3^- em seus vacúolos, tendo que assimilar a maior parte do NO_3^- logo após sua absorção. Desta forma, para a cana-de-açúcar as raízes parecem desempenhar um papel central na assimilação de N, como indicado pela atividade da sintetase da glutamina nas raízes de cana-de-açúcar nutridas somente com NO_3^- que foi maior do que em plantas nutridas somente com NH_4^+ .

Palavras-chave: *Saccharum* spp.; Nutrição mineral; Fotossíntese; Eficiência de uso de nitrogênio; Estresse oxidativo; Assinatura isotópica

Abstract

Nitrate (NO_3^-) and ammonium (NH_4^+) are the main forms of nitrogen (N) taken up by plants and could differently influence the crop production. Although the current thought is that sugarcane (*Saccharum* spp.) prefers NH_4^+ rather than NO_3^- , previous studies indicated that the crop presents similar response either NH_4^+ or NO_3^- . In addition, many plant species show toxicity or limited growth when supplied solely with NH_4^+ . The aim of this study was to evaluate the sugarcane response to the solely or combined supply of NH_4^+ and nitrate. Seedlings of sugarcane (cultivar CTC15) obtained from individual buds were initially sprouted in sand and then grown for 163 d in nutrient solution containing 15 mM N in the following proportions of $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$: 100/0, 75/25, 50/50, 25/75 and 0/100. The pH of the nutrient solution was kept at 5.8

± 0.1 . NH_4^+ -fed plants (0/100 treatment) presented lower biomass accumulation, nutrient content, and leaf than other treatments, probably related to the occurrence of brown rust in leaves, thus affecting their photosynthetic activity. However, there was no evidence that NH_4^+ was directly related to the oxidative stress in sugarcane plants in this study. The highest N use efficiency was obtained in NO_3^- -fed plants, which also had the highest biomass production, leaf area, nutrient content, photosynthetic activity, and growth of the root system. The disadvantage of NO_3^- supplying for sugarcane is that, unlike that occurs with many other plant species, sugarcane cannot store significant amount of NO_3^- in vacuoles, having to assimilate this anion after uptake. Thus, roots of sugarcane presumably play a key role in N assimilation, as indicated by the higher activity of glutamine synthetase in NO_3^- -fed plants than NH_4^+ -fed plants.

Keywords: *Saccharum* spp.; Mineral nutrition; Photosynthesis; Nitrogen use efficiency; Oxidative stress; Isotopic signature

3.1 Introdução

As principais formas de nitrogênio (N) absorvidas pelas plantas cultivadas são as inorgânicas de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+), sendo que a absorção de uma ou outra forma depende de uma série de fatores, como: disponibilidade dos íons no meio de cultivo, espécie vegetal, estatus fisiológico, concentração de CO_2 , pH, temperatura, intensidade luminosa, etc. (MENGEL et al., 2001; ESTEBAN et al., 2016 a). Conhecer a forma com que o N é absorvido é de extrema importância, uma vez que o nitrato e o amônio atuam diferentemente nos processos metabólicos e fisiológicos das plantas (GUO et al., 2007; BRITTO; KRONZUCKER, 2013) influenciando não só na assimilação de N, mas na respiração das raízes (NAKAMURA; NAKAMURA; TSUCHIYA, 2010), nas relações hídricas (LOPES; ARAUS, 2006; GUO et al., 2007; YANG et al., 2012), na fotossíntese (CRAMER; LEWIS, 1993; LOPES; NOGUÉS; ARAUS, 2004; HORCHANI et al., 2010) e no metabolismo secundário das plantas (WANG; BELOW, 1996; LU et al., 2009). Plantas com preferência pela absorção de nitrato podem apresentar toxidez ao amônio (BRITTO; KRONZUCKER, 2002), enquanto plantas que preferem amônio podem ter um atrofiado sistema de absorção de nitrato (KRONZUCKER et al., 1997).

A absorção do cátion NH_4^+ em plantas superiores ocorre sem gasto energético, por um sistema de transporte uniporte, seguindo o gradiente eletroquímico através da membrana plasmática (MARSCHNER, 2012). Para cada molécula de NH_4^+ absorvida pela raiz um próton é excretado para fora da célula, causando acidificação do meio externo (ANDREWS et al., 2004). A maior parte do

amônio absorvido é assimilada no próprio sistema radicular, uma vez que as plantas podem desenvolver sintomas de toxidez devido ao excesso de amônio livre nas células vegetais (BRITTO; KRONZUCKER, 2013). Sua assimilação a aminoácidos ocorre principalmente pela ação das enzimas sintetase da glutamina (GS) e sintase do glutamato, também chamada de aminotransferase da glutamina-oxoglutarato (GOGAT). Nesse processo, a GS catalisa no mesófilo das raízes ou no cloroplasto das folhas, com gasto de ATP, a transferência do amônio para o glutamato formando a glutamina, enquanto a GOGAT catalisa a transferência do grupo amida da glutamina para o 2-oxoglutarato, formando 2 moléculas de glutamato pela reação com a ferredoxina (ou menos comumente NADH) como redutor (ANDREWS; RAVEN; LEA, 2013). Ambas as enzimas são encontradas em várias isoformas nos tecidos das plantas. A GS1 citosólica e NADH-GOGAT aparentemente são responsáveis pela assimilação primária de amônio nas raízes e pela recaptura de amônio liberado pelo catabolismo de aminoácidos, enquanto a GS2 cloroplasmática e Fd-GOGAT parecem ter papel relevante na recaptura de amônio perdido durante a fotorrespiração e na assimilação primária de amônio nas folhas, sob condições de luz (elevada relação C/N) (TABUCHI; ABIKO; YAMAYA, 2007). A assimilação do amônio também pode ocorrer pela ação da desidrogenase do glutamato (GDH) através da aminação do 2-oxoglutarato, tendo importante papel na detoxificação de amônio em raízes de plantas superiores (LASA et al., 2002; MAJEROWICZ; KERBAUY, 2002; TERCE-LAFORGUE et al., 2004), contudo, essa enzima parece atuar predominantemente no catabolismo de aminoácidos (desaminação do glutamato) (HORCHANI et al., 2010).

O ânion NO_3^- , por sua vez, é absorvido por processo ativo, mediado pelo co-transporte de dois prótons através do mecanismo transportador próton-ânion e é, portanto, dependente de ATP para que a H^+ -ATPase mantenha um gradiente de H^+ através da membrana plasmática (LAMBERS et al., 2008). Após ser absorvido, o nitrato pode ser assimilado ou armazenado nas raízes ou ser liberado aos vasos do xilema e transportado por fluxo transpiratório para as folhas, onde será então reduzido e assimilado ou armazenado no vacúolo celular (ANDREWS; RAVEN; LEA, 2013). Antes de ser incorporado às cadeias carbônicas na planta, o nitrato necessita ser reduzido a amônio nas células vegetais e isto ocorre pela ação das enzimas redutase do nitrato (NR) e redutase do nitrito (NiR), que utilizam para isso o poder redutor do NAD(P)H produzido pela respiração e/ou fotossíntese (MILLER;

CRAMER, 2004). A exigência de energia para assimilação de NO_3^- é 20-21 ATP mol^{-1} , enquanto para assimilação de NH_4^+ necessita-se de apenas 5 ATP mol^{-1} (SALSAC et al., 1997)

A maioria das culturas agrícolas parece preferir o NO_3^- ao NH_4^+ , apesar do custo energético da absorção e assimilação do nitrato ser consideravelmente maior comparado com a utilização de amônio (BRITTO; KRONZUCKER, 2005). Isso porque concentrações elevadas de NH_4^+ ($> 0,5 \text{ mM}$) podem ser tóxicas para as plantas (BRITTO; KRONZUCKER, 2002), especialmente sob condições de baixo pH (MAGALHÃES; HUBER, 1989; ZHENG et al., 2015; SARASKETA et al., 2016). A absorção de amônio em elevadas quantidades causa efeito negativo no crescimento das plantas, e os possíveis mecanismos citados na literatura que explicam a toxicidade de amônio, são: desordens na regulação do pH celular, desacoplamento do transporte de elétrons pela fosforilação (GOYAL; LORENZ; HUFFAKER, 1982), alteração na glicólise de proteínas, acidificação da zona radicular (WALCH-LIU et al., 2000), competição na absorção com outros cátions, como o potássio - K^+ (KRONZUCKER; SZCZERBA; BRITTO, 2003; HELALI et al., 2010; TEN HOOPEN et al., 2010) e aumento do consumo de C pela raiz. Outra hipótese considerada até pouco tempo é que poderia ocorrer um ciclo transmembranar “fútil” de NH_4^+ , que propõe uma incapacidade patológica das células de raiz em restringir a entrada de NH_4^+ sob altas concentrações externas, a partir do qual muitos eventos tóxicos são desencadeados (BRITTO et al., 2001). Nesse modelo, um influxo rápido, termodinamicamente passivo de NH_4^+ é acoplado a um efluxo ativo de NH_4^+ que é quase tão rápido quanto o primeiro e restringe a função celular e energética da célula, resultando na diminuição do crescimento de plantas e mortalidade (COSKUN et al., 2013). Imagina-se que esse fenômeno ocorra em espécies sensíveis ao NH_4^+ , como a cevada (*Hordeum vulgare*) e, em menor grau, em espécies tolerantes, como o arroz (*Oryza sativa*), que podem ser susceptíveis em concentrações mais elevadas de amônio (BALKOS; BRITTO; KRONZUCKER, 2010; CHEN et al., 2013). Posteriormente, o mesmo grupo de pesquisa refutou esta hipótese ao perceber que o NH_3 e não o NH_4^+ seria a principal espécie de N transportada através da membrana celular (COSKUN et al., 2013). Esses resultados excluem a ideia de que o consumo excessivo de energia esteja associado com o efluxo de NH_4^+ e reintroduz o conceito de que as principais causas da toxidez de NH_4^+ , causadas pela nutrição

amoniacoal são o acúmulo de NH_4^+ na célula e o desbalanço de nutrientes (ESTEBAN et al., 2016 a).

Sabe-se que o excesso de amônio pode alterar processos metabólicos das plantas, como a atividade fotossintética (CRAMER; LEWIS, 1993; LOPES; NOGUÉS; ARAUS, 2004; LOPES; ARAUS, 2006), porém ainda não está bem esclarecido o papel do amônio no estresse oxidativo das plantas. É bem relatado na literatura que a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO's) como: peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ânion superóxido (O_2^-), radical hidroxila (OH^-) e oxigênio singlet ($^1\text{O}_2$), ocorre o tempo todo durante o crescimento e desenvolvimento das plantas, influenciado por vários fatores bióticos e abióticos, podendo causar danos oxidativos a proteínas, DNA e lipídios (DAT et al., 2000; APEL; HIRT, 2004; SUZUKI et al., 2012). Contudo, as plantas possuem mecanismos de desintoxicação, reguladas pelos níveis de ERO's, capazes de protegê-las desses danos oxidativos (FOYER; SHIGEOKA, 2011). Estes incluem enzimas antioxidantes, como a desmutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), redutase da glutathione (GR) etc., e vários compostos antioxidantes de baixo peso molecular, como a glutathione e ácido ascórbico, que reduzem ou tamponam o excesso de ERO's. A nutrição amoniacoal pode modificar o estado redox de várias espécies, alterando assim a homeostase das ERO's (PATTERSON et al., 2010), mas esta resposta tem sido contraditória. Os aumentos nos níveis de ERO's mitocondrial em folhas de *Arabidopsis* foram associados com estresse por amônio (PODGÓRSKA et al., 2013). Também Vuletić et al. (2010) relataram incremento no conteúdo de prolina e de atividades de enzimas antioxidantes induzidas pela presença de amônio em raízes de milho (*Zea mays*). No entanto, o estresse gerado pelo amônio em plantas de ervilha (*Pisum sativum*) e espinafre (*Spinacia oleracea*) consideradas tolerantes e sensíveis à toxidez de amônio, respectivamente, não foi considerado estresse oxidativo (DOMINGUEZ-VALDIVIA et al., 2008). Assim, a relação do amônio com o estresse oxidativo em plantas ainda é uma questão em aberto (BITTSÁNSZKY et al., 2015; ESTEBAN et al., 2016 a).

A fonte de N também pode influenciar na assinatura isotópica das plantas e já existe trabalho que propõe, por exemplo, utilizar os valores de $\delta^{15}\text{N}$ foliar para avaliar o padrão de captação de NO_3^- e NH_4^+ pelas plantas, a fim de monitorar e controlar a dinâmica dos ecossistemas terrestres (KAHMEN; WANEK; BUCHMANN, 2008). Isso porque a assinatura isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ foliar reflete o ^{15}N do "pool" de N

no solo, podendo sugerir, portanto, as magnitudes dos fluxos de perdas de N nos ecossistemas. Por exemplo, altas taxas de mineralização de N no solo são correlacionadas com os processos de desnitrificação ou lixiviação das formas inorgânicas de N; processos estes que conduzem ao empobrecimento do “pool” de N do solo, devido a perdas de N_2O , N_2 ou NO_3^- , geralmente contendo o isótopo mais leve (KAHMEN; WANEK; BUCHMANN, 2008, e as referências por eles citadas). Desta forma, analisar a composição isotópica do N nas plantas ($\delta^{15}N$) pode fornecer um indicativo de quais formas de N estão sendo utilizadas em determinados locais e condições. Assim, conhecer a assinatura isotópica da planta em função da absorção de nitrato e amônio, que são as principais formas de N absorvidas pelas plantas ajudaria, sobremaneira, na interpretação dos caminhos metabólicos em estudos dessa natureza.

Para a maioria das plantas o suprimento conjunto de nitrato e amônio na solução nutritiva parece favorecer o crescimento e a nutrição, comparado com o suprimento exclusivo dessas formas de N, mas as proporções ótimas de NO_3^-/NH_4^+ dependem da espécie da planta, do estágio de desenvolvimento e das concentrações fornecidas de N (MILLER; CRAMER, 2004; LEA; MOROT-GAUDRY, 2001; HELALI et al., 2010). Além da produção de biomassa seca das plantas é muito importante que seja considerada também a eficiência de uso de N pelas plantas com as duas formas minerais de N, principalmente, porque a cana-de-açúcar é uma das culturas que demanda grande parte dos fertilizantes nitrogenados produzidos mundialmente, contudo apresentam baixa eficiência de uso de N-fertilizante. O N do fertilizante aplicado nos agrossistemas canavieiros que não é utilizado pelas plantas fica passível de perdas podendo levar a contaminação ambiental. Nesse sentido, selecionar espécies com alta eficiência de uso de N é uma estratégia para melhorar a utilização de N pelas plantas e, possivelmente, diminuir a produção mundial de fertilizantes nitrogenados.

Armas et al. (1992) utilizando solução nutritiva avaliaram a influência das formas nitrato e amônio no crescimento e fotossíntese da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). Os autores relataram que a cultura pode utilizar o NH_4^+ , bem como o NO_3^- como fonte de N e que embora as plantas supridas com NH_4^+ , produzissem mais biomassa seca do que as supridas com NO_3^- , não foi detectada nenhuma diferença bioquímica associada à fotossíntese entre as duas formas de N. Em estudo mais recente em condições de vaso e campo, Robinson et al. (2011)

relataram forte preferência da cana pelo amônio, em detrimento ao nitrato, quando as plantas foram supridas com ambas as fontes. Contudo, estes estudos que utilizaram a técnica do traçador isotópico ^{15}N avaliaram a recuperação das formas de N poucas horas (até 48 horas) após a aplicação do fertilizante marcado, o que pode ter favorecido a recuperação do amônio, que possui absorção passiva, sem gasto energético. Também Kölln (2016) encontrou preferência de absorção por amônio em relação a nitrato na cultura nos primeiros três dias após a adubação; contudo é esperado que o fornecimento contínuo de amônio conduza a outro padrão de resposta das plantas. Neste contexto é importante destacar que a cana, ao contrário do que ocorre com a maioria das espécies cultivadas, não armazena quantidade expressiva de nitrato em seus vacúolos, o que pode indicar rápida assimilação do nitrato na parte aérea ou baixa absorção de nitrato (ROBINSON et al., 2011).

A hipótese considerada neste estudo é de que as plantas de cana-de-açúcar apresentaram melhor produção e nutrição quando as duas formas de N (nitrato e amônio) estiverem disponíveis às plantas e que o suprimento exclusivo de amônio irá resultar em menor crescimento e surgimento de algum tipo de estresse às plantas. Além disso, o suprimento das formas de N afetará a assinatura isotópica em $\delta^{15}\text{N}$ das plantas. Com base nessas hipóteses, objetiva-se com este estudo avaliar o crescimento, produção, metabolismo e nutrição das plantas de cana-de-açúcar supridas com combinações de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, em condições controladas.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Variedade de cana-de-açúcar e tratamentos

As mudas de cana-de-açúcar utilizadas neste experimento foram obtidas a partir de mini-toletes de aproximadamente 3 (três) centímetros de comprimento contendo uma gema. Os mini-toletes foram retirados dos 3 internódios centrais de colmos de cana-de-açúcar (cana-planta) da variedade comercial CTC15, com aproximadamente 10 meses de idade e colocados para germinar em bandejas plásticas contendo areia lavada como substrato (Apêndice C). No período entre a germinação e o transplântio, as mudas foram irrigadas somente com água desionizada e as plantas utilizaram apenas da reserva energética e de nutrientes do mini-tolete para se desenvolverem. No dia 3 de março de 2015 (22 dias após os

toletes serem colocados para a germinação), as mudas foram transplantadas para vasos plásticos contendo 5,5 L de solução nutritiva, em meio aerado (Apêndice D) com cinco proporções de $\text{N-NO}_3^-/\text{N-NH}_4^+$, que doravante será referido apenas como relação $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, mas alude a concentração de nitrogênio (N) fixada em 15 mM. No dia do transplante e por um período de dez dias as plantas foram cultivadas em solução nutritiva com 25% da força iônica, respeitando-se os tratamentos aplicados, para aclimação das mudas ao fornecimento de nutrientes. Posteriormente em todas as trocas foi fornecida a solução nutritiva completa, com 100% da força iônica (Tabela 3.1). Utilizou-se também um inibidor de nitrificação (dicianodiamida, $7\mu\text{M}$) em todos os vasos, e a cada troca de solução nutritiva, para prevenir a oxidação do amônio, conforme utilizado por Song et al. (2011).

Tabela 3.1 – Composição da solução nutritiva em função do suprimento de formas de N (nitrato e/ou amônio)

Proporção	Concentração do elemento (mM)*								
$\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$	pH**	N- NO_3^-	N- NH_4^+	P- H_2PO_4^-	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	S- SO_4^{2-}	Cl ⁻
100 / 0	4,81	15,00	0,00	1,0	9,0	5,0	2,0	3,5	-
75 / 25	4,91	11,25	3,75	1,0	9,0	5,0	2,0	3,5	7,5
50 / 50	4,88	7,50	7,50	1,0	9,0	5,0	2,0	3,5	15
25 / 75	4,86	3,75	11,25	1,0	9,0	5,0	2,0	3,5	17,5
0 / 100	4,87	0,00	15,00	1,0	9,0	5,0	2,0	3,5	25

* Os micronutrientes foram fornecidos nas seguintes concentrações: 5 ppm de ferro; 0,05 ppm de zinco; 0,02 ppm de cobre; 0,5 ppm de manganês; 0,5 ppm de boro e 0,01 ppm de molibdênio.

** pH após o preparo da solução nutritiva, que foi corrigido para $5,8 \pm 0,1$ antes de a solução ser fornecida às plantas (valores médios das 16 trocas realizadas).

A solução nutritiva utilizada seguiu as concentrações de nutrientes recomendadas por Hoagland e Arnon (1950). Assim, o potássio (K) e o enxofre (S) foram fornecidos nas concentrações de 6,0 e 2,0 mM, respectivamente. Contudo, quarenta e sete dias após o transplante (DAT) as plantas dos tratamentos com as maiores proporções de amônio (0/100 e 25/75 % de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, respectivamente) apresentaram sintomas de deficiência de K, indicada pelo amarelecimento da borda externa das folhas mais velhas em formato de V (Apêndice D). Essa deficiência ocorreu, provavelmente, por uma competição na absorção do K⁺ e NH₄⁺ (ROOSTA; SCHOERRING, 2008; TEN HOOPEN et al., 2010). Desta forma, em todas as trocas de solução nutritiva posteriores, a concentração de K, fornecido na forma de K₂SO₄, foi aumentada de 6 para 9 mM, incrementando consequentemente o enxofre de 2 para 3,5 mM. A condutividade elétrica da solução nutritiva foi de $2,47 \pm 0,03$; $2,93 \pm$

0,07; $3,54 \pm 0,04$; $3,96 \pm 0,09$ e $4,43 \pm 0,04$ para as proporções de nitrato/amônio: 100/0, 75/25, 50/50, 25/75 e 0/100, respectivamente.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) em Piracicaba/SP ($22^{\circ}42'S$ $48^{\circ}38'O$). Os dados de temperatura e umidade (Figura 3.1) foram registrados com o auxílio de um Data Logger. A média de temperatura na casa de vegetação foi de $27^{\circ}C$ (dia) e $20^{\circ}C$ (noite). Os vasos foram distribuídos em delineamento estatístico de blocos ao acaso, com cinco repetições. A renovação da solução nutritiva foi feita a cada 10 dias, totalizando ao final do experimento 16 trocas (163 dias). Diariamente o pH da solução nutritiva foi ajustado para $5,8 \pm 0,5$ com a adição de HCl 0,5 M ou NaOH 0,5 M e seu valor anotado para uma análise da evolução do pH ao longo do tempo.

Figura 3.1 – Valores médios diários de temperatura ($^{\circ}C$) e umidade relativa do ar (%) na casa de vegetação durante o período de condução do experimento.

Durante o crescimento das plantas foram feitas algumas aplicações de acaricidas a base de abamectina (27 e 56 DAT) e fungicidas a base azoxistrobina e ciproconazol (27, 76, 119 e 151 DAT) para o controle de ácaro branco, ácaro rajado e ferrugem marrom nas plantas de cana-de-açúcar. Cerca de 140 DAT os vasos de 5,5 L foram substituídos por vasos com capacidade para 10 L de solução nutritiva, a fim de evitar a limitação de crescimento do sistema radicular, visto que as plantas começaram a acumular biomassa fresca de forma exponencial (Apêndice D). Ao

atingirem 163 DAT (pouco antes dos seis meses de crescimento), as plantas foram colhidas e separadas em folhas secas, folhas verdes, colmos e raízes. O material vegetal fresco das plantas, como o terço médio da folha +1, a parte central do colmo (~6,5 g), além das raízes (~5 g) foram separados para análises enzimáticas. Esse material foi imediatamente preservado em N líquido e em seguida armazenado em ultra freezer a - 80°C até o momento das análises.

Na colheita, as raízes das plantas foram lavadas com KCl 10 mM e separadas para avaliações morfológicas do sistema radicular (~10% da biomassa fresca total de raízes) e determinação da biomassa seca. O material vegetal tanto da parte aérea como de raízes foram secos em estufa a 65° C, até atingirem massa constante. Em seguida foram pesados para determinação da biomassa seca e moídos em moinho tipo Willey. As amostras foram acondicionadas em frascos de plásticos tipo J30, e posteriormente levadas para as determinações químicas.

3.2.2 Medições de crescimento e de produção de biomassa seca das plantas

No dia da colheita das plantas determinou-se a altura das plantas e o diâmetro médio dos colmos. A altura da planta foi tomada como sendo a distância entre a base da planta no nível da tampa superior do vaso até o local de emissão da 1ª folha expandida (F+1), ou seja, a primeira folha superior com aurícula visível, também conhecida como folha TVD (Top Visible Dewlap). Após separação das folhas e colmos das plantas, o diâmetro de cada colmo foi medido com paquímetro digital no centro dos entrenós, sendo utilizada a média do diâmetro dos colmos. Determinou-se também a área foliar do limpo de folhas verdes no aparelho integrador de área foliar (modelo LAI-3100 – Li-COR, Lincoln, NE, USA) imediatamente após a colheita das plantas, tomando-se o cuidado de ter as lâminas foliares ainda turgidas. Para a determinação da produção de biomassa seca da parte aérea utilizou-se a soma das massas de seus componentes (folhas secas, folhas verdes e colmos). A biomassa seca das raízes foi obtida pela soma da massa seca das raízes secas em estufa após a colheita e cerca de 10% das raízes utilizadas para as avaliações morfológicas do sistema radicular, que também foram secas.

3.2.3 Acúmulo de macronutrientes, N-NO₃⁻, N-NH₄⁺ e abundância isotópica

Os teores de nitrogênio total (N-total), N-inorgânico na forma de nitrato (N-NO₃⁻) e amônio (N-NH₄⁺) e dos macronutrientes: fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) foram determinados no colmo, folha seca, folha verde e raízes das plantas de cana-de-açúcar. O teor de N total e a razão isotópica ¹⁵N/¹⁴N (δ¹⁵N‰) foram determinados em espectrômetro de massas modelo Hydra 20-20 SerCon Co., UK, acoplado a um analisador automático de N ANCA-SGL (BARRIE; PROSSER, 1996). A razão isotópica de ¹⁵N/¹⁴N (δ¹⁵N‰) da solução nutritiva em cada proporção de NO₃⁻/NH₄⁺ antes da aplicação foi de -2,60; -3,22; -0,07; -0,58 e -1,21 ‰, respectivamente, nas proporções de 100/0; 75/25; 50/50; 25/75 e 0/100. Esses diferentes resultados referem-se a razão isotópica de ¹⁵N/¹⁴N (δ¹⁵N‰) dos sais nitrogenados que compuseram cada solução nutritiva. Uma avaliação do fracionamento isotópico do ¹⁵N nas plantas de cana-de-açúcar foi realizada a partir dos valores de δ¹⁵N obtidos nas amostras vegetais no momento da colheita, descontando-se o valor inicial de δ¹⁵N da solução nutritiva.

O N-inorgânico foi determinado por metodologia descrita por Tedesco, Volkweiss e Bohnen (1985) por meio da extração com solução de KCl 1M, em que se utilizou 1 g de tecido vegetal seco e 15 mL de solução extratora (relação planta: solução 1:15 - m/v), seguida de destilação com MgO e liga de Devarda e titulação com solução de H₂SO₄ 0,0025 M. O acúmulo de cada nutriente foi determinado pela multiplicação do teor (mg g⁻¹ ou g kg⁻¹) pela biomassa seca (g) sendo expresso em mg planta⁻¹. A determinação dos teores dos macronutrientes: P, K, Ca, Mg e S seguiu metodologia descrita por Malavolta, Vitti e Oliveira (1997). A extração foi feita por meio da digestão nítrico-perclórica (extração via úmida) com posterior leitura dos nutrientes pelos métodos analíticos de: colorimetria (P), espectrofotometria de absorção atômica (Ca e Mg), fotometria de chama (K), e turbidimetria (S).

3.2.4 Teor de clorofila a e b, carotenoides e valor SPAD

A determinação do teor de clorofila a, b e carotenoides foi realizada no terço médio da folha +1, a mesma utilizada para as medições de valor SPAD e trocas gasosas. Foram utilizados discos foliares congelados em N líquido com umidade natural e armazenados em ultra freezer a -80°C. Para extração dos pigmentos

fotossintéticos, cinco discos de cada amostra (0,1 g) foram colocados em tubos de ensaio escurecidos e numerados, onde se adicionou 7 mL de Dimetil sulfóxido (DMSO), saturado com CaCO_3 . Os tubos foram tampados e incubados em banho-maria, por 4 horas, a temperatura de 65°C , segundo metodologia de Hiscox e Israelstam (1979). Após o resfriamento do extrato líquido, uma alíquota de 3 mL foi utilizada para as leituras de absorbância em espectrofotômetro, nos comprimentos de onda de: 415, 435, 480, 649,1 e 665,1 nm. O conteúdo de clorofila a, b e carotenoides foi calculado a partir das equações (1), (2) e (3), propostas por Wellburn (1994). Além disso, calculou-se o índice de feofitinização (IF) a partir da equação (4), como proposto por Ronen e Galun (1984), para avaliar a degradação da clorofila.

$$\text{Clorofila a: } 12,47 \times A_{665,1} - 3,62 \times A_{649,1} \quad (1)$$

$$\text{Clorofila b: } 25,06 \times A_{649,1} - 6,5 \times A_{665,1} \quad (2)$$

$$\text{Carotenoides totais: } (1000 \times A_{480} - 1,29 \times Ca - 53,78 \times Cb)/220 \quad (3)$$

$$\text{IF} = A_{435}/A_{415}. \quad (4)$$

onde: A_{415} , A_{435} , A_{480} , $A_{649,1}$ e $A_{665,1}$: Absorbância lida no comprimento de onda.

As leituras das unidades SPAD também foram efetuadas na folha +1 da cana-de-açúcar (no sentido do ápice para a base da planta), no terço médio da lâmina, evitando-se a nervura central das folhas, com emprego do clorofilômetro portátil fornecido pela Yara International ASA, Noruega (denominado de N-TESTER). Este medidor de clorofila é uma modificação da SPAD-502 Minolta® (MINOLTA CAMERA Co., 1989), ambos com mesmo princípio de medição, no entanto, com escalas diferentes de valores. Os valores obtidos por meio das leituras com o clorofilômetro N-TESTER foram transformados para valor SPAD por meio da fórmula (Yara International ASA, Noruega): $\text{SPAD} = (\text{NT} + 90) / 15$, em que: NT corresponde ao valor obtido pelas leituras do clorofilômetro (N-TESTER) (VIEIRA-MEGDA, 2013). O valor SPAD para cada unidade experimental foi obtido pela média de 30 leituras realizadas em cada planta.

3.2.5 Medidas de trocas gasosas

Um dia antes da colheita das plantas do experimento foram realizadas avaliações de trocas gasosas (assimilação líquida de CO₂, condutância estomática, carbono interno presente na câmara subestomática, relação da concentração interna e ambiente de CO₂ e transpiração) através de um analisador de gás infravermelho (*Infrared Gas Analyzer-IRGA, LI 6400, Li-Cor, Inc., Lincoln, NE, USA*). As leituras foram realizadas no período da manhã, entre 10:00 e 12:00 horas nas folhas diagnósticas da cana-de-açúcar (F+1). O fornecimento de CO₂ foi de aproximadamente 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$. A intensidade luminosa foi de 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com temperatura da folha mantida entre 20 e 25°C (McCORMICK; CRAMER; WATT, 2008). Por meio do produto entre os parâmetros de trocas gasosas e a área foliar (que considerou todas as folhas verdes fotossinteticamente ativas), foi determinada a assimilação líquida de CO₂ por planta ($A \times \text{Área foliar}$) e a condutância estomática por planta ($G_s \times \text{Área foliar}$) (ANTEN; WERGER; MEDINA, 1998). A eficiência de uso da água foi determinada pela relação entre a taxa de assimilação de CO₂ (A) e a taxa de transpiração (E), determinadas pelo *IRGA LI-6.400XT* (WANG; GAO, 2001).

3.2.6 Análise morfológica do sistema radicular

Na desmontagem do experimento amostrou-se cerca de 10% do sistema radicular total de cada planta, pesado em balança analítica (~31 a 88 gramas de biomassa fresca, dependendo do tratamento), para avaliações morfológicas do sistema radicular. As raízes foram acondicionadas em frasco de vidro contendo etanol, com 50% de concentração (v/v) e armazenadas a 4°C, para minimizar as alterações morfológicas e decomposição do tecido vegetal. Posteriormente foram realizadas análises morfológicas do sistema radicular através do software WinRhizo (Regent Instruments Inc., Quebec, Canada, 2000) acoplado a um *scanner* modelo Epson XL 10000, seguindo metodologia proposta por Bouma, Nielson e Koutstaal (2000), com algumas adaptações. Não foi necessária a coloração das raízes para melhorar o contraste das imagens digitais, que foram obtidas com resolução de 400 dpi. Para obtenção da imagem, as raízes foram dispostas em cuba de acrílico com água, evitando-se a sobreposição das mesmas.

As variáveis determinadas com o WinRhizo foram: comprimento das raízes (m); área superficial (m²), diâmetro médio (cm) e volume de raiz (m³). As raízes foram estratificadas em classes de diâmetro e agrupadas em 3 categorias: muito finas (< 0,5 mm); finas (0,5 a 2,0 mm); e grossas (> 2,0 mm), como proposto por Bhom (1979) para classificação por comprimento e área superficial. O comprimento específico (CE, m g⁻¹) foi obtido pela razão entre o comprimento total e a biomassa seca de raízes (LIU, 2009).

3.2.7 Eficiência de utilização de N

A partir dos dados de produção de biomassa seca, acúmulo de nutrientes nas partes das plantas e comprimento das raízes foi calculada: a eficiência de absorção de N, conforme proposto por Swiader; Chyan e Freiji (1994) que considera a biomassa seca de raízes (1) e também por Rosolem; Giommo e Laurenti (2000), que considera o comprimento do sistema radicular (2); a eficiência de transporte de N (LI; McKEAND; ALLEN, 1991); e a eficiência de uso de N (SIDDIQI; GLASS, 1981), por meio das seguintes equações:

$$\text{Eficiência Absorção de N (1)} = \frac{\text{Conteúdo total de N na planta (mg)}}{\text{Biomassa seca das raízes (g)}}$$

$$\text{Eficiência Absorção de N (2)} = \frac{\text{Conteúdo total de N na planta (mg)}}{\text{Comprimento das raízes (m)}}$$

$$\text{Eficiência de Transporte de N} = \frac{\text{Conteúdo de N na parte aérea (mg)}}{\text{Conteúdo total de N na planta (mg)}} \times 100$$

$$\text{Eficiência de Utilização de N} = \frac{\text{biomassa seca total produzida (g)}}{\text{Conteúdo total de N na planta (g)}}$$

3.2.8 Atividade da redutase do nitrato e sintetase da glutamina

A atividade da enzima redutase do nitrato (NR) nas folhas e raízes das plantas de cana-de-açúcar foi determinada aos 159 DAT das mudas, dois dias após a troca da solução nutritiva, de acordo com metodologia descrita por Mulder, Boxma

e van Venn (1959). As amostras de folha e raízes foram coletadas às 10 horas da manhã, utilizando-se o terço médio da primeira lâmina foliar com lígula visível (F+1), com remoção da nervura central, além da coleta de raízes mais finas (mais ativas). As lâminas foliares e raízes foram cortadas em pequenos segmentos com auxílio de tesouras, pesadas (0,2 g) e colocadas em tubos de ensaio, contendo 4 mL de KNO_3 0,25 M em tampão fosfato. As amostras foram cobertas por papel alumínio e incubadas em banho-maria, por duas horas, à temperatura de 35°C. Após este período de incubação, 1 mL do extrato foi amostrado para a determinação do nitrito formado e adicionado em balão volumétrico de 50 mL com cerca de 30 mL de água desionizada. Adicionou-se 1 mL de ácido sulfanílico (33,5 mM em solução com HCl 20%), 1 mL do indicador alfa-naftilamina (83,8 mM), que ao reagir com o nitrito desenvolve coloração rósea e 1 mL do tampão de acetato de sódio (2 M). O volume de cada balão foi completado para 50 mL com água desionizada. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 560 nm, e posteriormente foi efetuado o cálculo da concentração de nitrito, com uso de curva padrão e a atividade da NR foi expressa em $\mu\text{mol N-NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$.

A atividade da sintetase da glutamina (GS) nas folhas e raízes seguiu metodologia adaptada de Elliott (1953), sendo o material vegetal congelado em N líquido e armazenado em ultra freezer a -80°C antes da determinação. Amostras de 0,2 g de folha e 0,5 g de raízes foram maceradas em N líquido e na sequência com 2,0 mL do tampão de extração pH 7,5 (TRIS 50mM, mercaptoetanol 2 mM e EDTA 1 mM). O extrato foi centrifugado a 12.100 x g (4°C) por 10 min e 0,3 mL do sobrenadante da amostra foi adicionado a tubos de ensaio de 15 mL que continha: 0,5 mL de solução de trisaminometano - TRIS (200 mM, pH7,5); 0,2 mL de solução de Adenosina Trifosfato - ATP (50mM, pH7,0); 0,5 mL de solução de ácido glutâmico (500 mM, pH 7,5); 0,1 mL de solução de sulfato de magnésio (1 M); 0,3 mL de solução de hidroxilamina (100 mM) e 0,1 mL de solução de cisteína (100 mM), totalizando 2 mL após a adição da amostra. Como no momento da extração a planta já tem o composto de interesse na leitura formado, para cada amostra foi utilizado um branco, para descontar a quantidade inicial e considerar apenas a quantidade formada no período da análise. Dessa forma, o branco continha a amostra a ser analisada e todos os reagentes, exceto o ATP e o ácido glutâmico, sendo o volume de 2 mL completado com água desionizada. Os brancos e as amostras foram levados em banho Maria à 30°C por 30 min. A reação foi interrompida pela adição de

2 mL do tampão de paralização (FeCl_3 10%, TCA 10% e HCl 6 N, na proporção 1:1:1). Em seguida o material foi centrifugado a $3.020 \times g$ por 5 min (à temperatura ambiente) e a solução do sobrenadante foi posta para leitura em espectrofotômetro a 540 nm, para detectar a formação de γ -glutamilhdroxamato, utilizando curva padrão previamente preparada. A atividade da GS foi expressa em $\mu\text{mol } \gamma\text{-glutamilhdroxamato g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$.

3.2.9 Peroxidação lipídica e quantificação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2)

O dano oxidativo aos lipídios da membrana celular é um processo em que as espécies reativas de oxigênio, principalmente o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), reagem com os ácidos graxos insaturados da membrana celular, liberando produtos tóxicos como aldeídos e causando dano celular. A peroxidação lipídica foi estimada pelo conteúdo de substâncias reativas com o ácido 2-tiobarbitúrio (TBA), expresso na forma de malonaldeído (MDA) (HEATH; PACKER, 1968; BUEGE; AUST, 1978). Para tanto, duzentos miligramas de amostras de folhas (F+1), colmo e raízes congeladas em N líquido foram maceradas em 2 mL de ácido tricloroacético 0,1% (TCA), juntamente com 20% (m/m) de polivinilpolipirrolidona (PVPP). Após completa homogeneização, a amostra foi acondicionada em tubos eppendorff de 2,0 mL e centrifugado a $12.100 \times g$ (4°C) por 10 minutos. Da solução do sobrenadante, retirou-se 250 μL que foi transferido para outro tubo juntamente com 1,0 mL de solução contendo TCA 20% e TBA 0,5%. A mistura foi colocada em banho-seco a 95°C por 30 min, e na sequência, resfriada em gelo por 10 min. Após esse período realizou-se a leitura em espectrofotômetro à 535 e 600 nm. A concentração de MDA foi obtida através da fórmula: $[\text{MDA}] = [(\text{ABS}_{535} - \text{ABS}_{600}) / 155.000] \times 10^{-6}$, onde ABS é a leitura em absorbância no referido comprimento de onda. A quantidade de MDA foi expressa em $\mu\text{mol g}^{-1}$ de tecido fresco.

O H_2O_2 é considerado a principal espécie reativa de oxigênio responsável por desencadear a reação da peroxidação lipídica e foi quantificado segundo protocolo de Alexieva et al. (2001). Amostras frescas de folhas (F+1), colmo e raízes foram submetidas ao mesmo processo inicial realizado para a determinação da peroxidação lipídica (o material fresco foi macerado com TCA 0,1%: 0,2 g / 2mL (m/v) e após completa homogeneização centrifugado a $12.100 \times g$ (4°C) por 10 min). Do sobrenadante, retirou-se 200 μL que foram adicionados a tubos que continham

200 μL de solução de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e 800 μL de solução 1 M de iodeto de potássio. Os tubos foram colocados em gelo e permaneceram no escuro durante uma hora. Após este período, as amostras foram retiradas do gelo e mantidas no escuro por cerca de 20 min, à temperatura ambiente. Em seguida realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 390 nm. A quantidade de H_2O_2 foi expressa em $\mu\text{mol g}^{-1}$ de tecido fresco.

3.2.10 Determinação de proteínas

Um grama de amostras de tecido vegetal do colmo, folha +1 e raízes foram macerados em N líquido. Após maceração o material foi homogeneizado em 3 mL de solução tampão de fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 1 mM e ditioneitol (DTT) 3 mM. Além do tampão foram adicionados 0,04 g de polivinilpolipirrolidona (PVPP) no momento da homogeneização. O extrato resultante foi centrifugado a $12.100 \times g$ a 4°C durante 30 minutos. Posteriormente alíquotas do sobrenadante foram separadas e armazenadas em freezer à -80°C para posterior quantificação de proteínas a determinação da atividade das enzimas desmutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e redutase da glutathione (GR).

A quantificação de proteínas totais solúveis foi realizada conforme descrito por Bradford (1976), sendo que 20 μL do extrato foram homogeneizados com 1 mL do reagente de Bradford. O BSA (“bovine serum albumin”) foi utilizado como padrão. A solução foi deixada em temperatura ambiente por cinco minutos e realizou-se a leitura de absorbância em espectrofotômetro no comprimento de onda de 595 nm. O conteúdo de proteína foi expresso em mg de proteína g^{-1} de tecido fresco.

3.2.11 Atividade das enzimas do ciclo do estresse oxidativo

A atividade da CAT foi determinada a 25°C , de acordo com método descrito por Kraus, McKersie e Fletcher, (1995), com modificações de Azevedo et al. (1998). A reação foi iniciada pela adição de 25 μL de extrato vegetal a 1 mL de solução de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) + 2,5 μL de solução de peróxido de hidrogênio (30%) preparada imediatamente antes do uso. A atividade da CAT foi determinada monitorando-se a degradação do H_2O_2 a 240 nm durante o período de

1 minuto e dosagem contínua em intervalos de 10 segundos. Os resultados são expressos em $\mu\text{mol}/\text{minuto}/\text{mg}$ de proteína.

A atividade da SOD foi determinada em espectrofotômetro como descrito por Giannopolitis e Ries (1977). Quinze microlitros do extrato enzimático foram adicionados a 1,485 μL do meio de reação, constituído de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8, metionina 50 mM, NBT 1mM, EDTA 10mM e riboflavina 0,1 mM. A reação foi conduzida numa câmara de reação, coberta internamente com papel alumínio, sob iluminação de lâmpada fluorescente de 15 W, a temperatura de 25°C. Após 5 minutos de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e o composto blue formazana, produzido pela fotorredução do NBT, foi medido a 560 nm. Foram utilizados dois brancos, sendo um exposto à luz por 5 min, que indicava o potencial máximo de produção do blue formazana, e o outro mantido no escuro pelos mesmos 5 min, para zerar o equipamento. Os resultados foram expressos em U SOD/mg de proteína, sendo que 1 unidade de SOD = concentração de SOD necessária para inibir 50% da fotorredução do NBT para formazana.

A determinação da atividade da GR seguiu método descrito por Gomes-Júnior, Moldes e Delite (2006), com modificações. O meio de reação foi composto por solução que continha 1 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,5 com 1 mM de 2-ácido nitrobenzóico (DTNB), 1 mM de glutathiona oxidada (GSSG) e 0,1 mM de NADPH, a 30°C. A reação teve início após adição de 50 μL de extrato proteico. A atividade da GR foi estimada pela redução da GSSG, acompanhada por monitoramento na alteração da absorbância a 412 nm, por 1 minuto, em espectrofotômetro. A atividade da GR foi expressa em $\mu\text{mol}/\text{minuto}/\text{mg}$ de proteína.

3.2.12 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando-se o programa estatístico SAS (versão 9.3, SAS Institute, Inc., Cary, NC, EUA), por meio do procedimento PROC GLM, pelo teste F. Nos casos em que o valor de F foi significativo ($P \leq 0,05$) foi realizada a para comparação de médias dos tratamentos pelo teste t (LSD), também ao nível de 5% de significância. Todos os resultados foram apresentados (graficamente ou na forma de tabelas) juntamente com o erro padrão da média ($n=5$).

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Alteração no pH da solução nutritiva

O fornecimento exclusivo de nitrato às plantas de cana-de-açúcar promoveu a alcalinização da solução nutritiva e essa elevação de pH foi cada vez maior à medida que as plantas se desenvolveram e se intensificou a absorção de nutrientes; o que ocorreu principalmente cerca de 120 DAT (Figura 3.2). Por outro lado, o suprimento conjunto de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ou exclusivo de amônio promoveram a acidificação do meio hidropônico. No início (até os 40 DAT) a maior acidificação do meio ocorreu com o fornecimento exclusivo de amônio. Dos 40 aos 110 DAT, as combinações de nitrato e amônio (75/25, 50/50 e 25/75) acidificaram mais a solução nutritiva. Provavelmente neste período o baixo acúmulo de biomassa fresca promoveu menor absorção de amônio, para evitar uma possível toxidez celular. Porém, cerca dos 120 DAT quanto menores as proporções de nitrato e maiores de amônio (0/100, 25/75, 50/50, respectivamente) maiores foram as acidificações do meio hidropônico, que em apenas um dia caiu de 5,8 para até 2,8 no suprimento único de amônio (Figura 3.2).

Figura 3.2 - Variação do pH da solução nutritiva com o tempo (dias após o transplante - DAT). O pH do meio foi corrigido diariamente para $5,8 \pm 0,1$. Os tratamentos são indicados na legenda da Figura e representam proporções de $\text{N-NO}_3^-/\text{N-NH}_4^+$, respectivamente.

A absorção desbalanceada entre cátions e ânions, a assimilação de nitrogênio pelas plantas e a estabilização do pH celular são os responsáveis pela alteração do pH na solução nutritiva, uma vez que esses processos alteram a quantidade de H^+ e OH^- do meio externo, para que a célula vegetal mantenha o pH citoplasmático pouco acima da neutralidade (7,3 a 7,6); pH esse ótimo para que ocorram as atividades enzimáticas e metabólicas da planta (MARSCHNER; 2012). A absorção de nutrientes pelo mecanismo ativo excreta prótons H^+ para fora da raiz, pela ação das bombas $H^+ATPases$. Por outro lado, o mecanismo passivo retira íons (H^+ ou OH^-) da solução do solo e os coloca para dentro da célula juntamente com cátions ou ânions absorvidos (SOUZA; FERNANDES, 2006). Quando há maior absorção de cátions do que ânions, há um maior efluxo de prótons, o que provoca diminuição do pH externo. Por outro lado, quando há maior absorção de ânions do que cátions, há maior retirada de prótons ou adição de hidróxidos na solução nutritiva e o pH aumenta (MARSCHNER; 2012). A mudança do pH externo também ocorre devido a assimilação de nutrientes. No caso do N, a assimilação de uma molécula de NH_4^+ a compostos orgânicos pela planta resulta na geração de 1,22 mols de H^+ que devem ser excretados ou neutralizados para manter o pH celular (RAVEN, 1988). A maior parte do H^+ gerado na assimilação primária do amônio é extrusada para fora das raízes (ANDREWS et al., 2004), causando acidificação do meio externo. Por outro lado, a assimilação de uma molécula de NO_3^- a moléculas orgânicas resulta na geração de 0,78 mols de OH^- (RAVEN, 1988). A maior parte do OH^- assimilado nas raízes é extrusada para o solo - promovendo aumento do pH externo, enquanto o OH^- gerado da assimilação do nitrato na parte aérea é neutralizado pela síntese de ácidos orgânicos, como o malato (ANDREWS et al., 2004).

Dada a capacidade da planta em alterar o pH do meio externo no qual ela se desenvolve para manter o seu pH citoplasmático, torna-se evidente a importância da correção do pH da solução nutritiva, que ao contrário do solo não possui poder tampão. Corrigir o pH da solução nutritiva é essencial para determinar como as formas de N afetam as funções da planta, independente dos efeitos do pH externo (RAAB; TERRY, 1994). Isso porque em condições de baixo pH (abaixo de 4,0) os efeitos de toxidez de amônio são mais severos (MAGALHÃES; HUBER, 1989; ZHENG et al., 2015; SARASKETA et al., 2016), afetando seriamente o crescimento e modificando processos metabólicos das plantas; não necessariamente devido ao

suprimento de uma forma específica de N, mas possivelmente em resposta ao baixo pH do meio em que elas se desenvolvem.

3.3.2 Crescimento e produção de biomassa seca

As plantas de cana-de-açúcar deste estudo não exibiram nenhum sintoma visível de toxidez de amônio, como clorose internerval ou necrose marginal das folhas, murchamento ou atrofiamento do sistema radicular das plantas, como foi relatado por Walch-Liu et al. (2000) em plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*). Contudo, observou-se no momento da colheita (163 DAT) que plantas crescidas com relação de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ menor do que 1 (0/100 e 25/75) podiam ser distinguidas visualmente das demais, não pelo menor porte físico ou por algum sintoma de toxidez de amônio, mas por apresentarem sintomas de ataque do fungo causador da ferrugem marrom - *Puccinia melanocephala* (Figura 3.3). Esse sintoma é caracterizado por pequenas pontuações cloróticas nas folhas, que evoluem para manchas alongadas de coloração amarelada a marrom-escura, denominadas pústulas, que se desenvolvem na superfície superior e inferior das folhas e podem afetar a atividade fotossintética e o crescimento das plantas.

Neste estudo plantas supridas com as maiores quantidades de nitrato (100/0 e 75/25) estavam visualmente mais saudáveis. Embora bem relatado que o incremento nas doses de N aplicada às plantas aumente a susceptibilidade a infecção por fungos, como os da ferrugem (DANIAL; PARLEVLIET, 1995; DEVADAS et al., 2014), poucos trabalhos abordam a influência das formas de N sobre essa susceptibilidade. Huber e Watson (1974) indicaram que a severidade às doenças varia em função da forma de N fornecida às plantas e aponta que a ferrugem amarela e ferrugem do colmo na cultura do trigo (*Triticum* spp.) devem ser aumentadas quando o N for suprido na forma nítrica, e manifestam-se reduzidas quando o N for fornecido na forma amoniacal. Contudo, trabalho recente avaliando o crescimento bacteriano (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*) em plantas de tabaco sugerem que a via de sinalização associada à defesa da planta é comprometida em plantas nutridas com NH_4^+ , durante a resposta patogênica (GUPTA et al., 2013). Os referidos autores enfatizaram, ainda, que plantas supridas com NH_4^+ podem ter a resistência comprometida, a saber: i) pela redução na produção de óxido nítrico (NO), um dos principais contribuintes para a formação do

ácido salicílico (AS), que por sua vez está ligado aos processos de defesa da planta; ii) pela reprogramação metabólica de defesa para aumentar a produção de açúcar e ácido 4-aminobutírico (GABA), que aumentam a susceptibilidade das plantas à infecção patogênica. Ao contrário disso, plantas nutridas com NO_3^- teriam a capacidade de aumentar a produção de NO, bem como a síntese de poliamina (também envolvida no metabolismo de defesa) (GUPTA et al., 2013). Provavelmente em condições de campo a nutrição amoniacal na cultura da cana-de-açúcar cause efeito contrário ao relatado no presente estudo; a nutrição amoniacal causaria diminuição do pH da rizosfera e, conseqüentemente, solubilização de silício (Si) a partir dos silicatos, aumentando a absorção desse elemento pelas plantas (KEEPING et al., 2014; BORGES; ALMEIDA; PRADO, 2016). Isso pode, como consequência, aumentar a resistência das plantas à infecção pelo fungo causador da ferrugem marrom (CAMARGO; AMORIM; GOMES-JÚNIOR, 2013).

Figura 3.3 – Diferença visual das plantas supridas com combinações de formas de N ($\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$), 163 dias após o transplantio.

Como relatado anteriormente a quantidade de K^+ fornecida na solução nutritiva foi aumentada em 3 mM aos 47 DAT (de 6 para 9 mM), devido ao surgimento de sintomas de deficiência de K nas plantas supridas com proporções de NO_3^-/NH_4^+ de 25/75 e 0/100, que provavelmente ocorreu devido à competição na absorção do K^+ pelo NH_4^+ (ROOSTA; SCHOERRING, 2008; TEN HOOPEN et al., 2010), uma vez que canais específicos à absorção de K^+ podem mediar a entrada de NH_4^+ nas células das raízes (BALKOS; BRITTO; KRONZUCKER, 2010; COSKUN et al., 2013). Consequentemente, o aumento da concentração de K^+ na solução nutritiva pode ter amenizado os sintomas de toxidez de NH_4^+ nas plantas, visto que o K^+ fornecido em altas concentrações parece atuar na supressão do influxo e efluxo de NH_3/NH_4^+ em curto prazo (SZCZERBA et al. 2008; BALKOS; BRITTO; KRONZUCKER, 2010), sugerindo uma regulação pós-transcricional de NH_3 pelos transportadores de K^+ (COSKUN et al. 2013). Melhor explicando, o K^+ pode diminuir a toxidez de NH_4^+ , a saber: i) aumentando a incorporação de NH_4^+ em compostos orgânicos por enzimas como a GS e GDH (SARASKETA et al., 2016); ii) por inibir a aquisição de NH_4^+ por transportadores de baixa afinidade (SZCZERBA et al., 2008; BALKOS; BRITTO; KRONZUCKER, 2010); iii) interferindo no transporte de NH_3 (quando espécie for supostamente transportada para a célula), visto que o K^+ regula a atividade da aquaporina (supostos transportadores de NH_3 para dentro da célula) e o balanço hídrico da planta (COSKUN; BRITTO; KRONZUCKER, 2015).

O fornecimento de nitrato e/ou amônio não alterou o diâmetro e número de internódios do colmo, porém influenciou na altura das plantas e na relação entre a produção biomassa seca de raiz pela produção de biomassa seca da parte aérea - relação raiz/parte aérea (Tabela 3.2). Com o fornecimento exclusivo de amônio (0/100) a relação raiz / parte aérea foi de 0,250. Esse valor foi cerca de 30% menor que nas maiores relações nos tratamentos 100/0, 75/25 e 25/75. Em geral quando há aumento na disponibilidade de nutrientes às plantas é alocado, relativamente, menos biomassa nas raízes, uma vez que menos gasto energético será necessário para adquiri-los (ÅGREN; FRANKLIN, 2003; MILLER; CRAMER, 2004). Contudo, quando nutrientes intimamente associados com a fixação de carbono, como K, Mg ou Mn estão em baixa oferta haverá deficiência de carboidratos, acarretando em diminuição da relação raiz / parte aérea (ERICSSON, 1995). No presente estudo os nutrientes foram fornecidos às plantas em quantidades consideradas adequadas (HOAGLAND; ARNON, 1950); contudo, os resultados indicaram que houve

competição na absorção do NH_4^+ com outros íons catiônicos, como K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} , o que diminuiu a absorção e acúmulo destes nas plantas quando o N foi fornecido somente como amônio (Tabela 3.3). Esse fato pode ter contribuído para a menor alocação de biomassa seca nas raízes das plantas nutridas com amônio. Somado a isto, o NO_3^- também pode atuar como sinalizador para regular o particionamento de biomassa seca entre a parte aérea e raízes em plantas vasculares (SCHEIBLE et al., 1997). Estudos do efeito de N-NO_3^- sobre a arquitetura radicular de plantas de *Arabidopsis* sugerem que o sinal para regulação do crescimento de raízes em relação ao status de N é hormonal e devido à auxina (ZHANG; FORDE, 2000) ou ácido abscísico (SIGNORA et al., 2001).

Tabela 3.2 – Efeito da forma de N no crescimento das plantas de cana-de-açúcar

Proporção $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$	Altura da F+1 (cm)	Ø médio colmo (mm)	nº de internódios	Relação raiz/ parte aérea
100/0	91,5 ± 1,0 a	18,2 ± 0,4	11,6 ± 0,5	0,323 ± 0,01 a
75/25	88,9 ± 1,9 a	18,5 ± 0,6	11,4 ± 0,4	0,321 ± 0,02 a
50/50	88,5 ± 3,8 a	18,1 ± 0,9	12,0 ± 0,4	0,269 ± 0,01 b
25/75	91,1 ± 1,5 a	17,8 ± 0,4	12,8 ± 0,6	0,336 ± 0,02 a
0/100	81,5 ± 1,6 b	17,3 ± 0,5	11,4 ± 0,4	0,250 ± 0,01 b
p>F	0,045	0,659	0,242	0,005
CV	5,8	7,2	9,0	10,6
DMS	6,9	1,7	1,4	0,05

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste t (LSD) ao nível de 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação (%); DMS: diferença mínima significativa.

As proporções de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ afetaram a produção de biomassa seca das plantas de cana-de-açúcar sendo que o fornecimento exclusivo de amônio promoveu menor produção de biomassa seca de folha verde, colmo, parte aérea total e raízes, comparado com o fornecimento exclusivo de nitrato ou com algumas combinações de nitrato/amônio (Figura 3.4). Plantas com fornecimento exclusivo de NH_4^+ apresentaram redução na biomassa seca de 13-25% na parte aérea e 25-50% em raízes quando comparado com plantas que receberam alguma quantidade da fonte nítrica. Menor produção de biomassa seca também foi encontrada em plantas de cana-de-açúcar cultivadas in vitro, quando supridas com NH_4^+ , comparada à NO_3^- (HAJARI; SNYMAN; WATT, 2015). Essa redução na produção de biomassa pode ser explicada pelas maiores taxas de respiração nas raízes quando grande quantidade de NH_4^+ é absorvida pelo sistema radicular, já que a maior parte é

assimilada nesse mesmo órgão vegetal (KRONZUCKER et al., 1998; NAKAMURA; NAKAMURA; TSUCHIYA, 2010). Melhor explicando, a elevada absorção de NH_4^+ demanda grande quantidade de esqueletos de C para assimilação do N à cadeias carbônicas (GLOSER; SCHEURWATE; LAMBERS, 1996; BRITTO; KRONZUCKER, 2013); por sua vez, o elevado fornecimento de carboidrato às raízes faz com que haja diminuição na quantidade de carboidratos disponíveis para o crescimento dessa parte da planta.

A absorção e assimilação de N-NH_4^+ pela planta gera economia de energia metabólica e por isso dá a falsa impressão de ser benéfica às plantas. Contudo, para muitas espécies a fonte amoniacal causa redução na produção de biomassa seca, sendo que o melhor crescimento ocorre com o fornecimento misto da forma nítrica e amoniacal (WALCH-LIU et al. 2000; HELALI et al., 2010; MARSCHNER; 2012; HAJARI; SNYMAN; WATT, 2015). A dependência do NO_3^- para aliviar o estresse por NH_4^+ não está completamente esclarecido, mas parece estar intimamente relacionado aos processos de absorção, redução e sinalização decorridos deste ânion (HACHIYA et al. 2012).

Figura 3.4 – Produção de biomassa seca (g planta⁻¹) dos compartimentos: folha seca, colmo e folha verde (A) e da parte aérea total e raiz (B) de plantas de cana-de-açúcar cultivadas com proporções de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, por 163 dias. Letras iguais dentro de cada parte da planta não diferem entre si ($P \leq 0,05$).

Algumas espécies de plantas, como beterraba e tabaco apresentam menor área foliar e número de folhas quando supridas somente com amônio, se comparadas com plantas supridas com nitrato como forma única ou dominante de N (RAAB; TERRY, 1994; WALCH-LIU et al., 2000). Confirmando os resultados destes

trabalhos, houve diminuição da área foliar à medida que se aumentou a quantidade de amônio na solução nutritiva. A área foliar de plantas supridas somente com amônio foi de aproximadamente 2900 cm² por planta. Esse valor aumentou 70%, para quase 4300 cm² por planta, quando houve suprimento único de nitrato (Figura 3.5 A). Este efeito desfavorável do amônio na expansão foliar tem sido atribuído a redução da regulação osmótica (SALSAC et al., 1987; RAAB; TERRY, 1994) e, também, a redução no número e tamanho de células da folha (RAAB; TERRY, 1994; WALCH-LIU et al., 2000). Para Walch-Liu et al (2000) a redução no crescimento das células, assim como ocorre na regulação osmótica, pode estar ligado a ausência de NO₃⁻, e não à presença de NH₄⁺. Isso porque os autores acreditam que o nitrato pode estar ligado ao estímulo de citoquininas na planta, que por sua vez regulam os processos de divisão e alongação celular.

Embora em trabalho recente realizado por Robinson et al. (2011) tenha sido constatada preferência de absorção de N-NH₄⁺ pela cana-de-açúcar, estudos anteriores mostraram que a produção de biomassa da cultura foi similar para o fornecimento de amônio e nitrato (ARMAS et al., 1992; BIGGS, 2003). No presente estudo as plantas nutridas com a fonte amoniacal não desenvolveram sintomas de toxidez ao amônio, contudo, essa forma de N promoveu redução na área foliar e produção de biomassa das plantas, sendo que o melhor desenvolvimento das plantas de cana-de-açúcar deu-se com o uso da fonte nítrica.

Figura 3.5 – Índice de área foliar (cm² planta⁻¹) (A) e distribuição porcentual da biomassa seca (%) dos compartimentos vegetais (B) de plantas de cana-de-açúcar, cultivadas com proporções de NO₃⁻/NH₄⁺ por 163 dias. Letras iguais dentro de cada parte da planta não diferem entre si ($P \leq 0,05$).

A contribuição relativa dos componentes vegetais para produção total de biomassa seca das plantas foi influenciada pelas formas de N na solução nutritiva, com exceção para a produção de folhas; 40% da biomassa seca das plantas foi destinada a este órgão vegetal independente das formas minerais de N disponibilizadas na nutrição das plantas (Figura 3.5 B). No tratamento misto de NO_3^- / NH_4^+ (50/50) as plantas tiveram a maior quantidade relativa de massa seca alocada aos colmos (28,7%). Por outro lado, a maior quantidade de folhas secas (15,5%) foi obtida no tratamento 0/100, enquanto a maior distribuição de biomassa seca às raízes (~25%) ocorreu com o fornecimento de altas porcentagens de NO_3^- (100/0, 75/25), além de 25/75.

3.3.3 Acúmulo de macronutrientes na cana-de-açúcar relacionado à disponibilidade de NO_3^- e/ou NH_4^+

O fornecimento de NO_3^- e/ou NH_4^+ na solução nutritiva alterou o acúmulo de todos os macronutrientes na maioria dos compartimentos vegetais, incluindo o acúmulo de N, P, K, Ca e Mg no colmo; acúmulo de P, K, Ca e Mg nas folhas verdes e na parte aérea; acúmulo de P na folha seca; e acúmulo de todos os macronutrientes, exceto S, nas raízes das plantas (Tabela 3.3). Dentre essas alterações, fica evidente que a disponibilização exclusiva de N como NH_4^+ prejudicou o acúmulo de todos os macronutrientes (catiônicos e aniônicos) no colmo, folha verde, e raiz das plantas, exceto para o S que não mostrou efeito significativo, embora as médias de extração deste nutriente sempre foram menores na proporção 0/100. Exceção ocorreu para o acúmulo de P nas folhas secas, que foi maior no suprimento exclusivo de amônio; o mesmo ocorreu para o acúmulo de N no colmo, que foi maior para o fornecimento conjunto e igualitário de NO_3^- e NH_4^+ , comparada o fornecimento único dessas formas de N. O menor acúmulo de cátions em plantas supridas com NH_4^+ pode estar relacionado com a menor produção de ácidos orgânicos, ao contrário do que normalmente é encontrado em plantas supridas com NO_3^- que possuem elevada síntese de ácidos orgânicos (SALSAC et al., 1987; VON WIRÉN et al., 2001; WANG et al., 2009), uma vez que a reduzida síntese de ácidos orgânicos deixa de fornecer carga aniônica para acompanhar o acúmulo de cátions nas plantas (SALSAC et al., 1987). Os ácidos orgânicos têm papel importante na

regulação do turgor celular e plantas supridas com NH_4^+ parecem ter dificuldade de manter a pressão de turgor (VON WIRÉN et al., 2001).

Tabela 3.3 – Efeito da forma de proporções de N com nitrato e amônio no acúmulo de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) nos compartimentos das plantas de cana-de-açúcar

(continua)

Proporção $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$	Compartimento vegetal				
	Colmo	Folha verde	Folha seca	Parte aérea	Raízes
Acúmulo de N (mg planta^{-1})					
100/0	813 ± 151 c	1145 ± 211	154 ± 31	2112 ± 43	803 ± 23 ab
75/25	913 ± 181 bc	1234 ± 233	186 ± 37	2333 ± 115	868 ± 65 a
50/50	1080 ± 48 a	1034 ± 88	165 ± 7	2280 ± 92	726 ± 14 b
25/75	1027 ± 190 ab	1184 ± 226	180 ± 41	2391 ± 115	828 ± 68 ab
0/100	904 ± 56 bc	1114 ± 103	222 ± 20	2240 ± 117	535 ± 40 c
p>F	0,007	0,448	0,162	0,344	0,001
CV	11,0	15,0	23,4	10,4	13,3
DMS	139,3	228,9	56,9	315,2	144,3
Acúmulo de P (mg planta^{-1})					
100/0	209 ± 5 a	462 ± 14 a	81 ± 7 c	751 ± 17 a	285 ± 8 a
75/25	209 ± 10 a	459 ± 14 ab	105 ± 9 ab	773 ± 17 a	285 ± 27 a
50/50	220 ± 5 a	386 ± 22 c	98 ± 3 bc	703 ± 20 ab	227 ± 22 bc
25/75	193 ± 11 ab	397 ± 24 bc	100 ± 9 bc	690 ± 37 ab	267 ± 8 ab
0/100	169 ± 20 b	339 ± 25 c	121 ± 7 a	630 ± 45 b	180 ± 16 c
p>F	0,048	0,004	0,013	0,034	0,004
CV	12,6	11,6	15,3	9,6	16,7
DMS	33,7	63,5	20,8	91,0	55,7
Acúmulo de K (mg planta^{-1})					
100/0	841 ± 44 a	1925 ± 73 a	339 ± 44	3104 ± 117 a	195 ± 7 a
75/25	730 ± 54 ab	1827 ± 19 a	333 ± 31	2891 ± 82 a	185 ± 4 ab
50/50	677 ± 33 b	1495 ± 89 b	331 ± 16	2502 ± 79 b	170 ± 6 bc
25/75	574 ± 31 bc	1542 ± 74 b	352 ± 53	2468 ± 115 b	171 ± 3 b
0/100	509 ± 74 c	1348 ± 71 b	406 ± 27	2264 ± 113 b	152 ± 7 c
p>F	0,003	<0,001	0,263	<0,001	0,001
CV	17,5	10,2	16,6	9,6	7,7
DMS	156,6	222,0	78,2	342,1	17,9
Acúmulo de Ca (mg planta^{-1})					
100/0	55 ± 4 a	325 ± 10 a	127 ± 10	508 ± 11 a	125 ± 4 a
75/25	42 ± 4 b	294 ± 7 ab	133 ± 11	469 ± 19 a	83 ± 11 b
50/50	43 ± 5 b	255 ± 29 b	122 ± 10	420 ± 32 b	58 ± 7 c
25/75	24 ± 2 c	261 ± 9 b	125 ± 9	410 ± 11 b	60 ± 7 c
0/100	23 ± 3 c	198 ± 13 c	136 ± 8	358 ± 13 c	37 ± 2 d
p>F	<0,001	<0,001	0,758	<0,001	<0,001
CV	21,9	11,7	14,4	8,3	16,7
DMS	11,0	42,0	24,8	48,0	16,3

Tabela 3.3 – Efeito da forma de proporções de N com nitrato e amônio no acúmulo de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) nos compartimentos das plantas de cana-de-açúcar

(conclusão)

Proporção $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$	Compartimento vegetal				
	Colmo	Folha verde	Folha seca	Parte aérea	Raízes
----- Acúmulo de Mg (mg planta^{-1}) -----					
100/0	52 ± 3 a	163 ± 6 a	60 ± 4	275 ± 8 a	71 ± 3 a
75/25	49 ± 4 a	172 ± 3 a	73 ± 8	291 ± 13 a	60 ± 5 b
50/50	49 ± 3 a	144 ± 16 ab	66 ± 2	262 ± 17 ab	42 ± 4 c
25/75	39 ± 1 b	145 ± 13 ab	67 ± 6	252 ± 17 ab	46 ± 4 c
0/100	29 ± 3 b	117 ± 12 b	75 ± 7	221 ± 18 b	27 ± 1 d
p>F	<0,001	0,038	0,420	0,037	<0,001
CV	16,3	17,5	19,1	12,8	16,2
DMS	9,6	34,8	17,4	44,7	10,6
----- Acúmulo de S (mg planta^{-1}) -----					
100/0	109 ± 10	379 ± 17 a	100 ± 9	589 ± 21 a	252 ± 14 a
75/25	110 ± 16	375 ± 11 a	113 ± 12	597 ± 28 a	249 ± 20 a
50/50	107 ± 1	296 ± 37 b	97 ± 7	500 ± 40 ab	199 ± 26 ab
25/75	105 ± 7	311 ± 25 ab	97 ± 11	514 ± 35 ab	244 ± 14 a
0/100	82 ± 8	242 ± 22 b	106 ± 7	430 ± 28 b	160 ± 16 b
p>F	0,313	0,006	0,653	0,015	0,008
CV	21,9	17,2	18,0	14,1	18,2
DMS	30,1	74,0	24,8	99,7	53,8

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste t (LSD) ao nível de 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação (%); DMS: diferença mínima significativa.

Para Armas et al. (1992) a cana-de-açúcar mantém ativa a síntese de ânions orgânicos, independente da redução do nitrato, tendo um crescimento equivalente ou superior quando as plantas são supridas com amônio. Outros íons reguladores do potencial osmótico, como o Cl^- e o desacoplamento da atividade da PEP carboxilase e a NR em plantas C4, como a cana-de-açúcar, podem estar sendo utilizados para contornar o problema da baixa síntese de ácidos orgânicos na ausência de nitrato na nutrição (VON WIRÉN et al., 2001). Contudo, no presente estudo isso não foi verificado, já que o acúmulo de ânions foi reduzido com o fornecimento de NH_4^+ às plantas, bem como a produção de biomassa seca.

É interessante notar que a menor quantidade de N acumulado no colmo foi encontrada quando as plantas foram alimentadas somente com nitrato: 813 mg de N vs 1027 e 1080 mg de N nos tratamentos com 50/50 e 25/75 % de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, respectivamente; contudo o suprimento de NO_3^- e/ou NH_4^+ , não influenciou o acúmulo de N nas folhas, que são os órgãos fotossinteticamente ativos na planta

(Tabela 3.3). Biggs (2003) afirmou que o colmo pode ser o melhor indicador do estatus de N na planta que as folhas, uma vez que o aumento no fornecimento de N aumenta o acúmulo de N no colmo, mas nem sempre ocorre o mesmo nas folhas.

Na parte aérea o K foi o macronutriente encontrado em maior quantidade nas plantas crescidas exclusivamente com nitrato (3,1 g por planta), quantidade esta 37% maior do que o encontrado em plantas crescidas somente com amônio (2,3 g por planta) (Tabela 3.3). Nas raízes, porém, a quantidade de K acumulada foi inferior a N, P e S, sendo 15 vezes menor ao K acumulado na parte aérea. Isso pode estar relacionado com as funções que este nutriente desempenha nas plantas, já que as concentrações de K^+ vacuolar podem variar entre 10 e 200 mM (HSIAO; LÄUCHLI, 1986) ou chegar até a 500 mM em células-guarda dos estômatos (OUTLAW JUNIOR, 1983). Essas elevadas concentrações no vacúolo estão relacionadas com as funções de extensão celular e outros processos baseados no turgor celular, em que o K^+ é substituído por outros cátions (Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}) ou por solutos orgânicos (como açúcares, por exemplo) para controlar a pressão de turgor (MARSCHNER, 2012). O N foi o segundo nutriente mais acumulado na parte aérea (2,1 a 2,4 g), não sendo, contudo influenciado pelas formas de N disponibilizada às plantas (Tabela 3.3).

Considerando a quantidade de nutrientes acumulada na planta-inteira (parte aérea e raízes) é possível notar que a quantidade dos macronutrientes diminuiu com o aumento da relação NO_3^-/NH_4^+ , com exceção para o acúmulo de N que não sofreu influência das formas de N (Figura 3.6). O acúmulo de macronutrientes na planta seguiu a seguinte ordem de grandeza: $N > K > P > S > Ca > Mg$. O efeito da nutrição amoniacal na diminuição da concentração de cátions nos tecidos vegetais é reconhecido como a maior causa da toxidez de NH_4^+ (BRITTO; KRONZUCKER, 2002; ARIZ et al., 2011).

O acúmulo de $N-NH_4^+$ livre na célula (Figura 3.7) seguiu a ordem decrescente de grandeza: raiz > colmo > folhas verdes > folhas seca. Este foi de 4-12 vezes maior que o de nitrato no colmo, 2 -16 vezes nas folhas secas, 4-8 vezes nas folhas verdes e 11-33 vezes nas raízes, sendo que como esperado, de modo geral, quanto maior a quantidade de NH_4^+ fornecida na solução nutritiva maior foi o acúmulo deste íon nos tecidos vegetais (Figura 3.7). As plantas cultivadas com NH_4^+ quase que invariavelmente contém níveis mais elevados de NH_4^+ livre do que plantas crescidas com NO_3^- (HELALI et al., 2010; DONG et al., 2015). O acúmulo de $N-NH_4^+$ na raiz,

órgão vegetal que mais acumulou amônio livre, foi de cerca de 50 mg planta⁻¹ com o fornecimento de 15 mM de N-NH₄⁺ na solução nutritiva, o que equivale a concentração de NH₄⁺ de 121 µmol g⁻¹ de MS (dados não apresentados). Esta concentração é intermediária à encontrada em plantas consideradas susceptíveis e tolerantes a nutrição amoniacal. Cruz et al. (2006) avaliaram a concentração de NO₃⁻ e NH₄⁺ na parte aérea e nas raízes de três espécies de plantas susceptíveis [alface (*Lactuca sativa* L. cv Marine), tomate (*Lycopersicum esculentum* L. cv Trust) e espinafre (*S. oleracea* L. cv Spinner)] e duas espécies tolerantes ao amônio [ervilha (*P. sativum* L. cv Eclipse) e tremçoço (*Lupinus albus* L. cv albus)], cultivadas com concentrações de N entre 0,5 e 6 mM, fornecidos na forma de nitrato ou amônio, por um período de 3 semanas. Plantas cultivadas com 6 mM de N-NH₄⁺ consideradas susceptíveis à nutrição amoniacal tiveram concentrações de NH₄⁺ nas raízes de 13,4 a 77,0 µmol g⁻¹ de MS enquanto em plantas tolerantes essa concentração foi de 300 a 370 µmol g⁻¹ de MS (CRUZ et al., 2006). A retenção de NH₄⁺ nas raízes pode prevenir o transporte desse íon para a parte aérea, que é mais sensível ao acúmulo de NH₄⁺ (SCHJOERRING et al., 2002) e pode estar relacionada com a tolerância das plantas ao amônio.

Figura 3.6 – Acúmulo de macronutrientes em plantas de cana-de-açúcar sob cinco proporções de NO₃⁻/NH₄⁺. Os valores indicam a média ± erro padrão da média (n=5). Letras diferentes indicam diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre tratamentos.

O acúmulo de N-NO₃⁻ seguiu a ordem decrescente de grandeza: colmo > folhas verdes > raiz > folha seca e não foi influenciado pelas formas de N utilizadas

(Figuras 3.7). Houve acúmulo de nitrato nos tecidos vegetais mesmo quando a fonte de N fornecida foi o amônio. Isso pode ser um indicativo de ter havido nitrificação do NH_4^+ na solução nutritiva, mesmo com o uso do inibidor de nitrificação DCD (dicianodiamida). No entanto, é pouco provável que esse fenômeno contribua com a tendência de respostas das plantas à diminuição da proporção $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, que indicou menor eficácia da nutrição amoniacal para sustentar o crescimento da planta. Isso porque as quantidades acumuladas foram muito baixas, ficando entre 0,9 e 3 mg planta^{-1} de N-NO_3^- nos compartimentos da folha seca e colmo, respectivamente.

Figura 3.7 – Efeito das formas de N fornecidas do meio de cultivo no acúmulo de N-NH_4^+ e N-NO_3^- na folha seca - FS (A), nas folhas verdes – FV (B), no colmo (C) e na raiz (D) das plantas. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente entre si pelo teste LSD ($P \leq 0,05$).

Ao contrário do que acontece com muitas espécies de plantas cultivadas em altas concentrações de N que têm capacidade de armazenar grandes quantidades de nitrato nos vacúolos (CRUZ et al., 2006; MARSCHNER et al., 2012), os resultados do presente estudo mostram que isso não ocorreu com as plantas de

cana-de-açúcar, uma vez que pequena quantidade de nitrato livre foi encontrada nos tecidos vegetais, mesmo com o fornecimento de 15 mM de N-NO_3^- na solução nutritiva. Esses resultados corroboram com os encontrados por Robinson et al. (2011), que relataram que a cana-de-açúcar e alguns de seus ancestrais, pertencentes a família *Saccharum*, como *S. spontaneum* e *S. officinarum* têm baixa capacidade de armazenar NO_3^- na parte aérea. Isso pode estar indicando rápida assimilação de nitrato visto que a quantidade acumulada no vacúolo é baixa, mas o crescimento das plantas em área foliar e biomassa seca foram superiores aos de plantas supridas com NH_4^+ .

3.3.4 Concentração de clorofila, carotenoides e valor SPAD

As clorofilas (Chl) são pigmentos localizados no cloroplasto e formados por moléculas complexas especialmente ajustadas para as funções de absorção de luz, transferência de energia e de elétrons durante as reações fotoquímicas e bioquímicas da fotossíntese, que ocorrem, respectivamente, nas membranas dos tilacóides e no estroma do cloroplasto (TAIZ; ZEIGER, 2013). As Chl são formadas por uma estrutura de anel do tipo porfirina com um átomo central de magnésio ligado a quatro átomos de nitrogênio. Existem quatro tipos de Chl (*a*, *b*, *c* e *d*), mas as Chl *a* e *b* são as mais abundantes nas plantas verdes. A Chl *a*, contém um grupo metil ($-\text{CH}_3$) no C-3 do anel de porfirina e na Chl *b* (considerada um pigmento acessório) um grupo aldeído ($-\text{CHO}$) substitui o grupo metil (HOPKINS; HÜNER, 2008). No presente estudo as formas de N supridas na solução nutritiva afetaram a concentração de Chl *a* e *b* da folha+1 da cana-de-açúcar, sendo que as plantas que receberam maior quantidade de NH_4^+ tiveram concentração de clorofila *a* e *b* cerca de 20% menores (205 e 54 $\mu\text{g g}^{-1}$ de tecido fresco, respectivamente) comparada com plantas que receberam 75 % de N-NO_3^- e 25 % de N-NH_4^+ (248 e 67 $\mu\text{g g}^{-1}$ de tecido fresco, de Chl *a* e *b*, respectivamente) (Tabela 3.4). Possivelmente os teores de Chl foram influenciados pelas quantidades de Mg acumuladas, já que plantas nutridas com NH_4^+ acumularam menor quantidade de Mg nas folhas (Tabela 3.3).

No presente estudo, a relação entre a concentração de Chl *a/b* variou de 3,4:1 a 4,1:1, sendo maior quando o N foi fornecido às plantas apenas na forma nítrica, comparativamente aos tratamentos 50/50 e 25/75 (Tabela 3.4). A variação na quantidade de Chl *a* e *b* é importante, pois possibilita a captação de energia

luminosa em diferentes comprimentos de ondas. Yamazaki et al. (2005) relatam que espécies tolerantes à sombra produzem uma proporção mais elevada de Chl *b* em relação à Chl *a*, o que diminui a razão Chl *a/b*, para melhorar a eficiência de absorção da luz azul-verde em ambientes com pouca luz. A disponibilidade de N associada à intensidade luminosa também pode alterar a relação Chl *a/b*, e esta deve aumentar com a diminuição da disponibilidade de N, especialmente sob condições de alta intensidade luminosa (KITAJIMA; HOGAN 2003). Segundo esses autores, quando o suprimento de N começa a ser limitante sob alta luz, a alocação proporcional de Chl para o fotossistema II (PSII) deve aumentar, ao custo da diminuição na quantidade de N alocada à Rubisco, enquanto a alocação de N para o complexo coletor pigmento-proteína de captação de luz (LHCII) deve se manter a níveis similares. O LHCII armazena a maior parte da Chl *b*, tendo, consequentemente, a menor relação Chl *a/b* (1,3-1,4) do que outras Chl ligada às proteínas associadas com o PSII (EVANS, 1989). Consequentemente a relação PSII/LHCII (e a relação Chl *a/b*) deve aumentar com a diminuição na disponibilidade de N.

Tabela 3.4 – Concentração de clorofila *a*, clorofila *b*, carotenoides, relação entre clorofila *a/b*, índice de feofitinação (IF) e valor SPAD determinados na F+1 da cana-de-açúcar em função das proporções de nitrato e amônio em que as plantas foram crescidas

Proporção NO ₃ ⁻ /NH ₄ ⁺	Chl <i>a</i> ----- µg g ⁻¹ tecido fresco	Chl <i>b</i> ----- µg g ⁻¹ tecido fresco	Carot.	Chl <i>a/b</i> -----	IF	Valor SPAD
100/0	227 ± 4 ab	55 ± 2 b	41 ± 2	4,1 ± 0,1 a	1,31 ± 0,01	53,1 ± 0,9
75/25	248 ± 16 a	67 ± 5 a	46 ± 3	3,8 ± 0,1 ab	1,24 ± 0,03	52,0 ± 0,9
50/50	224 ± 15 ab	66 ± 2 a	41 ± 4	3,4 ± 0,2 b	1,28 ± 0,03	47,7 ± 2,8
25/75	209 ± 5 b	63 ± 6 ab	42 ± 4	3,4 ± 0,3 b	1,27 ± 0,04	51,3 ± 3,1
0/100	205 ± 2 b	54 ± 4 b	38 ± 1	3,9 ± 0,3 ab	1,28 ± 0,04	46,7 ± 2,8
p>F	0,015	0,048	0,412	0,023	0,666	0,224
CV	8,1	12,8	13,9	10,2	5,4	9,9
DMS	24,2	10,5	7,7	0,5	0,09	6,7

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de LSD a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação (%); DMS: diferença mínima significativa.

Além da clorofila outros pigmentos acessórios estão presentes nos cloroplastos, como os carotenoides (carotenos e xantofilas). Estes têm como função prevenir a oxidação das clorofilas (fotoproteção) em casos de estresse e também de atuar na captação da luz (HOPKINS; HÜNER, 2008). Neste estudo o conteúdo de

carotenóides não foi influenciado pelas formas de N fornecidas às plantas (Tabela 3.4). Da mesma forma, o índice de feofitinação da clorofila não foi afetado pelas proporções de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ (Tabela 3.4). A feofitinação é o processo pelo qual o íon Mg^{2+} da molécula de Chl *a* é substituído por duas moléculas de hidrogênio, formando a feofitina, cuja função é deceptor primário de elétrons do fotossistema II da fotossíntese, e que apresenta cor marrom azeitona característica (HOPKINS; HÜNER, 2008). A produção de feofitina indica, portanto, o grau de degradação da molécula da Chl *a*.

O valor SPAD apresentou pequena variação de valores em função das formas de N fornecidas às plantas (46,7 a 53,1 unidades SPAD) e não indicou diferenças entre eles (Tabela 3.4), embora a concentração de clorofila e de N nas folhas tenham sido alterados pelos tratamentos. A diferença na concentração de N das folhas embora sutil foi significativa, com valores de 16,6 (c); 18,1 (bc); 17,8 (bc); 19,0 (b) e 21,4 (a) g kg⁻¹ de MS para 100/0, 75/25, 50/50, 25/75 e 0/100, respectivamente. Não houve no presente estudo correlação entre a quantidade de clorofila e a concentração de N nas folhas (dados não apresentados), diferentemente do encontrado para várias gramíneas como arroz e milho, além de outras espécies (XIONG et al., 2015), incluindo a cana-de-açúcar (ILKAE et al., 2016). Provavelmente isso ocorreu devido à pequena variação na concentração de N e de clorofila na folha+1 das plantas, que não foi captada pelo clorofilômetro portátil N-tester.

3.3.5 Trocas gasosas

As variáveis de troca gasosas das plantas de cana-de-açúcar foram influenciadas pelo fornecimento de NO_3^- e/ou NH_4^+ às plantas, sendo que fornecimento único de NH_4^+ provocou redução de 60%, 40% e 56% na taxa de assimilação líquida de CO_2 (*A*), condutância estomática (*g*_s) e na taxa de transpiração das plantas (*E*) respectivamente, comparado ao suprimento exclusivo de NO_3^- (Figura 3.8 A, B, C). Reduzidas taxas fotossintéticas também foram observadas em plantas de trigo e cevada quando o NH_4^+ foi fornecido às plantas em vez de NO_3^- (CRAMER; LEWIS, 1993; LOPES; NOGUÉS; ARAUS, 2004). Essa menor eficiência fotossintética pode estar ligada ao fato de que o NH_4^+ pode provocar o desacoplamento do transporte de elétrons da fosforilação oxidativa em

tecidos fotossintetizantes (GOYAL; LORENZ; HUFFAKER, 1982; PELTIER; THIBAUT, 1983).

O principal fator limitante na assimilação líquida de CO_2 (expressa como A) em plantas que receberam NH_4^+ , comparada com plantas que receberam NO_3^- ou ambas as formas de N, tem sido apontado como o fechamento dos estômatos (LOPES; NOGUÉS; ARAUS, 2004; LOPES; ARAUS, 2006), que consequentemente provoca redução da taxa de transpiração das plantas (expressa como E) (Figura 3.8 C). Por sua vez, as razões pelas quais o NH_4^+ reduz a condutância estomática (expressa como g_s) não estão claras e podem ser várias, mas uma regulação osmótica deficiente, devido à menor captação de cátions, ou mesmo pela ausência do nitrato que tem importante papel osmótico e também é essencial para o transporte de cátions no xilema, pode ser um dos motivos (LOPES; ARAUS, 2006). Além disso, a menor concentração de K^+ pode afetar a função estomática das plantas (LAPORTE; SHEN; TARCZYNSKI, 2002). Isso seria possível no presente estudo, visto que a concentração e também o acúmulo de K nas folhas foram menores em plantas supridas com NH_4^+ e maiores em plantas supridas com NO_3^- (Tabela 3.3).

A menor capacidade fotossintética de plantas alimentadas com NH_4^+ (Figura 3.8) refletiu nas variáveis de crescimento e nutrição, bem como na produção de massa seca, área foliar e acúmulo de macronutrientes das plantas (Figuras 3.3, 3.4 e Tabela 3.3). O acúmulo de nutrientes, por exemplo, desempenha papel direto no processo fotossintético; o P está ligado aos processos de aquisição, estocagem e utilização de energia, diretamente envolvido com a adenosina trifosfato (ATP), NADP e NAPH; o K é cofator de mais de 40 enzimas e principal cátion ligado ao turgor celular; o Ca está envolvido na manutenção da integridade da membrana plasmática das células vegetais, especificamente para a seletividade do transporte de íons; o Mg é constituinte da molécula de clorofila e está envolvido com a ativação enzimáticas de transferências de energia via ATP, participando, portanto, de grande número de funções no processo fotossintético (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

A eficiência de uso da água (EUA) das plantas de cana-de-açúcar foi em torno de $6,7 \mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$, independente da forma de N fornecida às plantas (Figura 3.8 D). Provavelmente a EUA em plantas supridas com NH_4^+ foi mantida à custa do fechamento estomático (LOPES; NOGUÉS; ARAUS, 2004; LOPES; ARAUS, 2006), que por sua vez limitou a eficiência fotossintética das plantas.

Figura 3.8 – Assimilação líquida de CO_2 – A (A), condutância estomática - gs (B), taxa de transpiração – E (C), eficiência de uso da água - EUA (D), carbono interno presente na câmara subestomática – Ci (E) e relação da concentração interna e ambiente de CO_2 - Ci/Ca (F), no primeiro limbo foliar de folhas recém-expandidas (folha +1) das plantas de cana-de-açúcar cultivadas com proporções de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente entre si pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

Os resultados indicaram que o NO_3^- e o NH_4^+ alteraram os processos de trocas gasosas, afetando a eficiência fotossintética das plantas, sendo que o NH_4^+ parece causar efeito depressivo na fotossíntese. Esses resultados contrariam os encontrados por Armas et al (1992), que não encontrou alteração significativa nos primeiros passos da fotossíntese com a utilização dessas formas de N. Os autores relataram que o cultivo das plantas com 2 mM de NO_3^- ou NH_4^+ não influenciou o rendimento quântico, a taxa de assimilação líquida de CO_2 , nem a atividade in vitro da carboxilase e descarboxilase, enzimas envolvidas na via de redução do CO_2 e na

própria via do carbono (C). Armas et al (1992) mostraram, também, que plantas cultivadas com NH_4^+ apresentaram maior massa fresca, altura e diâmetro de colmo do que as cultivadas com NO_3^- , resultados esses contrários aos deste trabalho. Essas diferenças nos resultados podem ser devido a diferenças genotípicas das plantas de cana-de-açúcar e às próprias condições de cultivo, visto que a quantidade de N fornecida às plantas no referido estudo foi 7,5 vezes menor do que a utilizada no presente estudo. A queda na atividade fotossintética pelo suprimento de NH_4^+ também pode estar relacionada com o ataque de ferrugem marrom sofrida pelas plantas neste estudo. A presença de pústulas causadas pela infecção fúngica tem causado redução da atividade fotossintética com consequente redução de produtividade em plantas de cana-de-açúcar (ZHAO et al. 2011) e em outras gramíneas como arroz (BASTIAANS; ROUMEN, 1993) e trigo (ROBERT et al., 2006). Porém é importante ressaltar que as plantas foram cultivadas nas mesmas condições experimentais e que o surgimento da ferrugem marrom em plantas nutridas com NH_4^+ ocorreu devido a alguma susceptibilidade que estas plantas apresentaram, inerentes à sua nutrição.

O produto entre a área foliar e a taxa fotossintética (taxa de assimilação líquida de CO_2 e condutância estomática) representa a taxa fotossintética total de cada planta. Esta indica que o tratamento com NO_3^- foi mais eficiente fotossinteticamente aos demais (Figura 3.9). Por outro lado, plantas supridas com NH_4^+ tiveram a pior taxa de assimilação líquida de CO_2 e condutância estomática. O suprimento misto de NO_3^- e NH_4^+ fez com que as plantas mostrassem desempenho intermediário ao fornecimento exclusivo destas formas.

Figura 3.9 – Assimilação líquida de CO_2 por planta (A) e condutância estomática por planta (B) no primeiro limbo foliar de folhas recém-expandidas (folha +1) das plantas de cana-de-açúcar crescidas em proporções de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente entre si pelo teste LSD ($P \leq 0,05$).

Considerando que o amônio pode atuar como desacoplador, dissociando o transporte de elétrons da fosforilação oxidativa nos cloroplastos, (GOYAL; LORENZ; HUFFAKER, 1982; PELTIER; THIBAUT, 1983) e na dissipação do gradiente de prótons requeridos para o transporte de elétrons da fotossíntese (BLOOM, 1997), a diminuição na taxa fotossintética por planta (assimilação líquida de CO_2 e condutância estomática por metros de área foliar) pode ocorrer se os íons NH_4^+ forem transportados para as folhas em quantidades suficientes para desencadear tais processos. A significativa diminuição da atividade fotossintética (Figura 3.8 e 3.9) juntamente com a maior relação raiz/parte aérea observada para plantas de cana-de-açúcar supridas com NH_4^+ em comparação com plantas supridas com NO_3^- (Tabela 3.2) indicam que: i) sob nutrição amoniacal a biomassa seca foi mais alocada para as raízes do que para a parte aérea das plantas, e ii) a produção de carboidratos pela fotossíntese não foi suficiente para cobrir a necessidade de esqueletos de carbono para assimilação de NH_4^+ e crescimento da planta.

3.3.6 Análise morfológica do sistema radicular

O diâmetro médio e o comprimento específico das raízes das plantas de cana-de-açúcar foram influenciados pelo suprimento de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$. O fornecimento de NO_3^- em proporções maiores que 1 (100/0 e 75/25) resultou em menor diâmetro médio (0,30 mm) e maior comprimento específico (101 m g^{-1}) das raízes comparado aos demais tratamentos (Figura 3.10). Teoricamente, plantas com maior comprimento específico têm maior capacidade de exploração e aquisição de água e de nutrientes no solo por unidade de carbono investido (BOUMA et al., 2001).

O NO_3^- bem como o transportador de NO_3^- NRT1.1 participa da regulação da auxina nas células vegetais, que por sua vez, estimulam o desenvolvimento de raízes laterais da planta por meio de um mecanismo ainda não esclarecido (ESTEBAN et al., 2016 a). Plantas de *Medicago sativa* nutridas somente com NH_4^+ e ureia apresentaram crescimento mais lento das raízes principais e secundárias do que plantas nutridas com NO_3^- , sendo que o comprimento total das raízes foi positivamente correlacionado com o conteúdo de auxinas na planta (ESTEBAN et al., 2016 b).

Figura 3.10 – Diâmetro médio (A) e comprimento específico (B) de raízes de plantas de cana-de-açúcar cultivadas com nitrato e/ou amônio por 163 dias. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente entre si pelo teste LSD ($P \leq 0,05$).

O comprimento total, área superficial e volume das raízes foram influenciados pelas formas de N em todas as classes de diâmetro de raízes (muito fina, fina, grossa e também na quantidade total de raízes), com exceção para o volume de raízes muito finas, sendo que quanto maior o suprimento de NH_4^+ na solução nutritiva, mais afetado foi o crescimento do sistema radicular das plantas (menor comprimento, área superficial e volume das raízes) comparado com plantas nutridas com NO_3^- (Tabela 3.5). As raízes podem se adaptar eficientemente as condições ambientais em que se desenvolvem e modificar a morfologia radicular de acordo com elas (Li et al., 2010). No presente estudo, o NH_4^+ presente na solução nutritiva resultou em menor crescimento do sistema radicular comparado com a presença de NO_3^- , bem como no menor acúmulo de nutrientes, incluindo o Ca, importante para o crescimento das raízes. Concentrações elevadas de amônio (superior a 10 mM) geralmente inibem o desenvolvimento de raízes primárias (BRITTO; KROUZUCKER, 2002; LIU et al., 2013). A inibição do crescimento das raízes em plantas alimentadas com NH_4^+ , conforme Li et al. (2010) e Liu et al. (2013), ocorre principalmente, devido a uma repressão no alongamento das células, e na inibição na divisão celular. Os autores relacionaram esse fenômeno a dois mecanismos de toxidez de amônio, a saber: ao elevado efluxo de NH_4^+ nas raízes de plantas de *Arabidopsis* induzido pelo pelas elevadas concentração de amônio; e a atividade da enzima GMPase, que regula o processo de efluxo de NH_4^+ nas plantas, uma vez que plantas mutantes com maior atividade da GMPase apresentaram maior efluxo de amônio. Outros experimentos, também indicaram que a aplicação localizada de NO_3^- pode estimular o crescimento de raízes laterais em gramíneas como trigo e milho (HACKETT, 1972;

GRANATO; RAPER, 1989). Pelo exposto, o NO_3^- mostra-se como uma fonte vantajosa de N para o crescimento do sistema radicular.

Tabela 3.5 – Comprimento total, área superficial e volume das raízes de plantas de cana-de-açúcar cultivadas com formas de N, por 163 dias e classificadas por classes de diâmetro e total

Proporção $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$	Raiz muito fina (< 0,5 mm)	Raiz fina (0,5 - 2,0 mm)	Raiz grossa (> 2,0 mm)	Total de raiz
Comprimento (m)				
100/0	3.769 ± 289 a	551 ± 16 a	7,6 ± 1,0 a	4.328 ± 288 a
75/25	3.751 ± 433 a	547 ± 45 a	8,0 ± 1,1 a	4.306 ± 474 a
50/50	3.312 ± 689 ab	522 ± 77 a	7,2 ± 0,9 a	3.841 ± 757 ab
25/75	2.237 ± 147 bc	441 ± 23 ab	4,5 ± 0,4 b	2.682 ± 168 bc
0/100	1.790 ± 185 c	346 ± 33 b	1,3 ± 0,1 c	2.137 ± 200 c
p>F	0,014	0,023	<0,001	0,012
CV	32,5	20,8	33,2	30,2
DMS	1.295	134	2,6	1.402
Área Superficial (cm²)				
100/0	2,4 ± 0,3 a	1,3 ± 0,03 a	0,056 ± 0,01 a	4,3 ± 0,4 a
75/25	2,1 ± 0,2 ab	1,3 ± 0,11 a	0,054 ± 0,01 ab	4,0 ± 0,4 a
50/50	2,0 ± 0,4 abc	1,2 ± 0,17 a	0,046 ± 0,01 ab	3,7 ± 0,7 a
25/75	1,6 ± 0,2 bc	1,1 ± 0,09 ab	0,034 ± 0,00 bc	3,1 ± 0,2 ab
0/100	1,2 ± 0,1 c	0,8 ± 0,07 b	0,014 ± 0,00 c	2,3 ± 0,2 b
p>F	0,047	0,027	0,004	0,028
CV	33,3	21,2	39,0	27,6
DMS	0,8	0,3	0,02	1,3
Volume (cm³)				
100/0	163 ± 6	155 ± 12 a	9 ± 3 ab	327 ± 11 a
75/25	170 ± 16	127 ± 12 ab	13 ± 3 a	309 ± 25 ab
50/50	166 ± 28	108 ± 10 b	9 ± 3 ab	282 ± 37 ab
25/75	147 ± 15	101 ± 5 b	7 ± 1 bc	254 ± 16 b
0/100	105 ± 11	69 ± 8 c	2 ± 1 c	177 ± 14 c
p>F	0,094	<0,001	0,016	<0,001
CV	25,6	20,6	52,8	19,3
DMS	52	31	5,5	70

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de LSD a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação (%); DMS: diferença mínima significativa.

Analisando a morfologia do sistema radicular de plantas de algodão (*Gossypium hirsutum*) crescidas com nitrato ou amônio e expostas ou não ao estresse salino, Dai, Duan e Dong (2015) relataram que o comprimento radicular, a área superficial e o volume de raízes de mudas tratadas com NO_3^- foram maiores do que aqueles tratados com NH_4^+ , independente da condição salina em que as plantas

foram expostas. Esses resultados estão de acordo com os encontrados no presente estudo e indicaram que os o maior crescimento das raízes de plantas nutridas com nitrato pode estar associado ao papel sinalizador que este ânion desempenha no metabolismo vegetal.

3.3.7 Eficiência de uso de nitrogênio

A cana-de-açúcar apresenta baixa eficiência de uso do N-fertilizante; normalmente 65-80% do N-fertilizante aplicado ao solo não é utilizado pela cultura (MEYER et al., 2007; FRANCO et al., 2011; VIEIRA-MEGDA et al., 2015), permanecendo no solo devido a imobilização pelos microrganismos ou mesmo sendo liberado ao ambiente por vias diversas que incluem perdas por emissão de NH_3 , N_2 e N_2O , lixiviação no solo do NO_3^- , etc. Dessa forma, existe uma tendência/necessidade em selecionar plantas que absorvam e utilizem o N-fertilizante de modo mais eficiente, ou seja, plantas com maior eficiência de uso do N, uma vez que o N é o um dos nutrientes mais caros no fornecimento às plantas e o que mais se associa com aumento de produção das culturas.

Existem, na literatura, várias definições para eficiência de uso de N e estas diferem em alguns aspectos básicos, mas se baseiam na biomassa total da cultura ou peso de grãos (discutido em GOOD; SHRAWAT; MUENCH, 2004; BRAUER; SHELP, 2010). No presente estudo foram avaliadas as eficiências: de absorção de N (EAN); de transporte de N (ETN) e de utilização de N (EUN).

A EAN descreve a capacidade da planta em absorver o N fornecido às plantas e foi expresso de duas formas: mg N por g^{-1} de raízes e mg N por m^{-1} de raízes. Ambas as variações da EAN mostraram maior eficiência (112 mg N g^{-1} MS raízes e 1,23 mg N m^{-1} raízes) na presença da maior quantidade de NH_4^+ (0/100), enquanto a utilização exclusiva da fonte NO_3^- (100/0) resultou nas menores valores de EAN (72 mg N g^{-1} MS raízes e 0,69 mg N m^{-1} raízes), mostrando que a absorção passiva de NH_4^+ pelas plantas é mais eficiente em colocar o nutriente dentro da célula que a absorção ativa de nitrato (Figura 3.11 A e B). A eficiência de transporte de N (ETN), que por sua vez, indica a capacidade de transportar o nutriente das raízes (tecidos fonte) para a parte aérea das plantas (tecidos drenos) também foi maior quando as plantas foram nutridas somente com NH_4^+ (0/100), comparada aos demais tratamentos (Figura 3.11 C), com média de 80,7%. Por outro lado, a

eficiência de uso de N (EUN) que indica o quanto de massa seca foi produzida pela quantidade de N investida, foi maior para plantas que receberam NO_3^- na solução nutritiva, sendo que quanto maior a quantidade de NH_4^+ fornecida às plantas menor foi a EUN (Figura 3.11 D). Plantas nutridas com NO_3^- apresentaram EUN de 56,6 g MS g^{-1} de N, valores este 26% maiores do que a EUN encontrada em plantas que receberam NH_4^+ (44,9 g MS g^{-1} de N). A EUN talvez seja o fator mais importante a se considerar, pois revela a eficiência traduzida em produção de massa seca por quantidade de N investido. Se menor quantidade de N for requerida para a produção de determinada massa seca, menor poderá ser o aporte de fertilizante nitrogenado à planta, inclusive em condições de campo.

Figura 3.11 – Eficiência de absorção – EAN (A), transporte - ETN (B) e utilização de N – EUN (C) por plantas de cana-de-açúcar cultivadas por 163 dias com o fornecimento de nitrato e/ou amônio na solução nutritiva. MS: biomassa seca (parte aérea + raízes). Letras diferentes indicam diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre tratamentos.

Em trabalho avaliando a EUN em quatro variedades de cana-de-açúcar cultivadas in vitro, com 4 e 20 mM de N-NO_3^- ou N-NH_4^+ , Hajari, Snyman e Watt (2015) relataram que as maiores diferenças na eficiência de uso entre os genótipos foram observadas na concentração de N de 4 mM. Nesta concentração, duas

variedades apresentaram maior EAN (conteúdo de N na planta/ quantidade de N fornecida) quando o N foi suprido como NH_4^+ ; uma variedade com o N suprido como NO_3^- ; e uma variedade não foi influenciada pela forma de N utilizada. Por outro lado, três variedades apresentaram maior EUN no meio com NO_3^- do que com NH_4^+ e uma variedade não foi influenciada pela forma de N. Já a eficiência de uso de N (biomassa produzida/ quantidade de N fornecida) foi maior quando o N foi fornecido como NO_3^- , comparado com NH_4^+ , para as quatro variedades avaliadas, apoiando os resultados do presente estudo, que indicam haver maior EUN quando a cana-de-açúcar é nutrida com NO_3^- , embora a EAN seja maior com o fornecimento de NH_4^+ .

As mesmas variedades utilizadas por Hajari, Snyman e Watt (2015) foram utilizadas em estudos de cinética de absorção, de acordo com o modelo de Michaelis-Menten, e apresentaram maior V_{max} para N- NH_4^+ do que para N- NO_3^- , mas maior afinidade (K_m) para o N- NO_3^- (HAJARI; SNYMAN; WATT, 2014). Assim, os autores indicaram haver correlação inversa entre o V_{max} (que indica a preferência de absorção de íons pela planta) e a eficiência de uso de N e correlação direta entre o K_m (que indica a afinidade de transporte do íon) e a eficiência de uso de N. Assim posto, embora o amônio seja a fonte “preferencial” de N pela cana-de-açúcar, como mostrado pela maior eficiência de absorção e transporte de N neste estudo, a maior eficiência de utilização do N, também traduzida em maior crescimento e desenvolvimento das plantas foi obtida com o uso exclusivo da fonte nítrica.

3.3.8 Composição isotópica das plantas em $\delta^{15}\text{N}$

Os valores de delta ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$) da planta-inteira de cana-de-açúcar indicaram que o N assimilado sofreu fracionamento dos isótopos de N (^{15}N e ^{14}N) em relação aos valores iniciais de $\delta^{15}\text{N}$ do N da solução nutritiva, apenas quando o NH_4^+ foi fornecido em proporções de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+ \leq 1$, como pode ser observado na Figura 3.12. Quando as plantas exaurem completamente a fonte de N, os valores de $\delta^{15}\text{N}$ da planta-inteira ficam muito próximos ao da fonte de N; contudo, se somente uma parte do N for absorvida o fracionamento isotópico que ocorre entre o produto (planta) e o substrato (solução) pode afetar os valores de $\delta^{15}\text{N}$ tanto da planta como da solução remanescente de N, sem perturbar o equilíbrio geral do balanço isotópico de massas (YONEYAMA et al., 2001). Dessa forma, as plantas tornam-se enriquecidas ou empobrecidas isotopicamente em relação à fonte externa de N,

quando ocorre perda de N através da planta que normalmente é isotopicamente diferente, de menor valor, que o $\delta^{15}\text{N}$ médio da planta-toda.

Figura 3.12 – Assinatura isotópica expressa em $\delta^{15}\text{N}$ ‰ na planta-inteira de cana-de-açúcar e valor original de $\delta^{15}\text{N}$ ‰ do N da solução nutritiva em função do suprimento de nitrato e/ou amônio. ns: indica que não houve diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre o $\delta^{15}\text{N}$ da planta-inteira e solução nutritiva (fonte de N) enquanto o * indica que houve diferença significativa entre eles.

Quando a maior parte do N foi fornecida como NO_3^- (100/0, 75/25) o $\delta^{15}\text{N}$ da planta-inteira ($-3,43 \pm 0,36$ ‰ e $-3,04 \pm 0,84$ ‰, respectivamente) não foi significativamente diferente do $\delta^{15}\text{N}$ da fonte de N ($-2,60 \pm 0,15$ ‰ e $-3,22 \pm 0,10$ ‰, respectivamente) (Figura 3.12). Este resultado era esperado visto que estudos anteriores, e que constam da literatura, descreveram valores de $\delta^{15}\text{N}$ da planta-inteira mais baixos ou próximos aos da fonte de N para diferentes concentrações de NO_3^- . (MARIOTTI et al., 1982; EVANS et al., 1996; YONEYAMA et al., 2001). Isto indica que no presente estudo não houve perdas de N nas plantas de cana-de-açúcar cultivadas com NO_3^- . Ao contrário disto, Ariz et al. (2011) relataram valores mais positivos de $\delta^{15}\text{N}$ na planta inteira em nove espécies de plantas alimentadas com NO_3^- , e associaram as perdas de N por efluxo de NH_4^+ e exsudados radiculares (EVANS, 2001; YONEYAMA et al., 2001; KOLB; EVANS, 2003) e/ou perdas de NH_3 através dos estômatos (MATTSSON; SCHJOERRING, 1996; MATTSSON; HUSTED; SCHOERRING, 1998; MASSAD et al., 2010). Isso porque o NH_3 da folha é originado predominantemente da fotorrespiração e pode ter valores de $\delta^{15}\text{N}$ de até

- 40‰ (HANDLEY et al., 1999; PEUKE et al., 2006), e o $^{14}\text{NH}_3$ é perdido mais rapidamente pelos estômatos que o $^{15}\text{NH}_3$ (ODEEN, 1989).

Ariz et al. (2011) observaram aumento na discriminação isotópica de N em espécies de plantas que são suscetíveis à toxidez de amônio, comparada com espécies tolerantes. Assim, os autores propuseram que plantas com menor tolerância a nutrição amoniacal são mais empobrecidas no isótopo mais pesado de N (^{15}N), e apresentam, portanto, valores mais negativos de $\delta^{15}\text{N}$. Estes valores variaram de -8 a -15 ‰ nas espécies consideradas mais sensíveis, como alface, espinafre e tomate, ficando relativamente próximos aos valores encontrados no presente estudo para plantas de cana-de-açúcar nutridas somente com amônio (-7,92‰).

Os valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ da planta-inteira, crescidas com proporções de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+ \leq 1$ revelaram empobrecimento do isótopo mais pesado de N (^{15}N) (Figura 3.12). Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Ariz et al. (2011) que relataram tendência de aumento no empobrecimento isotópico com o aumento da concentração de N para a maioria das nove espécies avaliadas, quando as plantas foram nutridas somente com NH_4^+ . O fracionamento isotópico que causa empobrecimento do isótopo mais pesado (^{15}N) na planta-inteira com o fornecimento único de NH_4^+ pode ser oriundo de alguns processos, como: (i) algumas moléculas de NH_4^+ enriquecidas em ^{15}N podem ser liberadas das raízes, depois da assimilação do NH_4^+ pela GS em elevadas concentrações de NH_4^+ , podendo contribuir significativamente com o empobrecimento do ^{15}N em plantas alimentadas com NH_4^+ (YONEYAMA et al., 2001; ARIZ et al., 2011); ii) possivelmente há alta concentração de NH_3 , produzida no equilíbrio $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$, no meio com alta concentração de NH_4^+ . O NH_3 produzido é empobrecido no isótopo mais pesado (até -20‰) e apesar de representar uma fração muito pequena do total de NH_4^+ , apresenta rápida difusão através da membrana, tornando os valores de $\delta^{15}\text{N}$ ‰ do NH_3 absorvidos significativos, a ponto de empobrecer a planta-inteira (YONEYAMA et al., 2001; ARIZ et al., 2011).

Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ internos da planta, ou seja, nos compartimentos da cana-de-açúcar, sofreram fracionamento em relação os valores iniciais de $\delta^{15}\text{N}$ da solução nutritiva (Figura 3.13). Em plantas terrestres vasculares o fracionamento do ^{15}N e ^{14}N está associado com a assimilação inicial do N exógeno de fontes externas por meio de vias distintas; alocação interna; remobilização; trocas gasosas e perdas de N pela

planta (HANDLEY; SCRIMGEOUR, 1997). Segundo os autores em casos de fracionamento interno na planta esses são causados por enzimas e não por processo de transporte físico. Isso porque mais energia é necessária para quebrar ou formar ligações químicas envolvendo compostos contendo o ^{15}N do que com o ^{14}N . Em média, moléculas que contêm o isótopo mais leve (^{14}N) reagem mais rapidamente (por exemplo, com uma enzima) do que aqueles que contêm o isótopo mais pesado (^{15}N) (ROBINSON, 2001). Dentre as perdas inclui-se: efluxo de N pelas raízes das plantas, exsudação de aminoácidos e peptídeos, perdas gasosas a partir da parte aérea das plantas e perda das partes das plantas, como frutos e folhas velhas (MARIOTTI et al., 1982; HANDLEY; SCRIMGEOUR, 1997; YONEYAMA et al., 1997).

Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ de plantas nutridas com NH_4^+ e NO_3^- variaram de -8,127 a 5,022 ‰ em relação à fonte de N, sendo significativamente diferentes com a forma de N fornecida às plantas e compartimento vegetal (Figura 3.12). De modo geral, a partir dos resultados da assinatura isotópica natural observou-se a seguinte tendência (Figura 3.12): plantas alimentadas com as maiores proporções de NO_3^- tendem a ser mais enriquecidas, no isótopo mais pesado de N, principalmente nas folhas das plantas, enquanto plantas alimentadas com maiores proporções de NH_4^+ tiveram o $\delta^{15}\text{N}$ reduzido, ou seja, foram empobrecidas em ^{15}N (-3 a -8 ‰) em comparação com a fonte de N, em todos os compartimentos vegetais (Figura 3.12). Esses valores de $\delta^{15}\text{N}$ são decorrentes dos diferentes padrões de assimilação de NO_3^- e NH_4^+ na planta. O $\delta^{15}\text{N}$ das folhas pode ser maior do que o das raízes em plantas alimentadas com nitrato porque o nitrato disponível para assimilação nas folhas é enriquecido em relação ao nitrato das raízes, uma vez que ele se origina de um pool que tem sido exposto à assimilação (EVANS, 2001). Por outro lado, o empobrecimento relativo nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ em plantas nutridas com amônio pode ser oriundo do próprio processo de absorção de NH_4^+ , sendo que quanto maior a quantidade absorvida deste cátion, mais negativo são os valores de $\delta^{15}\text{N}$ na planta (YONEYAMA et al., 1991). Os autores também encontraram valores de $\delta^{15}\text{N}$ na parte aérea e raízes maiores do que em constituintes orgânicos nitrogenados, sugerindo que também ocorre fracionamento durante a assimilação do amônio, sendo esse fracionamento dependente da concentração de amônio, da espécie e do cultivar.

Figura 3.13 – Valores de $\delta^{15}\text{N}$ (‰) nas raízes, colmos, folhas verdes e folhas secas de plantas de cana-de-açúcar supridas com nitrato e/ou amônio como forma de N. Letras maiúsculas comparam os compartimentos vegetais dentro do mesmo tratamento (proporção de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$) e letras minúsculas comparam o tratamento dentro do mesmo compartimento vegetal.

Evans et al. (1996) não observaram nenhuma variação interna do $\delta^{15}\text{N}$ em plantas de tomate cultivadas com NH_4^+ , enquanto que o $\delta^{15}\text{N}$ nas folhas foi maior que o das raízes em plantas crescidas com NO_3^- . No presente estudo, esta tendência também foi observada para a cana-de-açúcar, embora plantas cultivadas somente com amônio apresentaram menor empobrecimento em ^{15}N nas folhas velhas do que no colmo, folhas verdes e raízes das plantas (Figura 3.13).

Embora a absorção de NO_3^- não cause fracionamento do ^{15}N na planta-inteira, resultando em valores de $\delta^{15}\text{N}$ na planta próximos aos da fonte aplicada (YONEYAMA et al. 2001), no presente estudo os valores de $\delta^{15}\text{N}$ das raízes de plantas alimentadas por NO_3^- foram negativos (-1,6 ‰), provavelmente devido a outros processos que causam fracionamento, como redução do nitrato e assimilação do amônio. O processo de redução de NO_3^- à NO_2^- na planta é responsável pelo fracionamento do N nítrico. Mariotti et al., (1982) encontraram menor empobrecimento no isótopo mais pesado de N (^{15}N) em plantas de milho (*Pennisetum americanum* e *P. mollissimum*) alimentadas com nitrato com o aumento da atividade da NR nessas plantas.

3.3.9 Atividade enzimática da redutase do nitrato e sintetase da glutamina

As atividades das enzimas redutase do nitrato (NR) e sintetase da glutamina (GS) foram influenciadas pelas formas de N (nitrato e amônio) fornecidas às plantas. (Figura 3.14). Para ambas as enzimas a maior atividade enzimática ocorreu nos tecidos foliares e não nas raízes das plantas. Para a NR e GS a atividade foi de 20-1300 e 5 a 10 vezes maior nas folhas do que nas raízes, respectivamente.

Plantas crescidas com NO_3^- como fonte de N tiveram maior atividade da NR nas raízes e folhas ($0,57$ e $3,92 \mu\text{mol N-NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$, respectivamente), comparado com plantas que receberam somente NH_4^+ ($0,00$ e $1,30 \mu\text{mol N-NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$, nas folhas e raízes, respectivamente), apesar de não ter sido encontrada correlação entre a concentração de NO_3^- (Figura 3.7) e atividade da NR (Figura 3.14), já que a concentração de NO_3^- foi baixa e não foi influenciada pela forma de N fornecida à planta (Figura 3.14). As maiores quantidades de NO_3^- (100/0 e 75/25) também proporcionaram a maior atividade da GS nas raízes das plantas ($\sim 1,37 \mu\text{mol } \gamma\text{-glutamilhdroxamato g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$), contudo, nas folhas o fornecimento misto de nitrato e amônio (50/50) favoreceu a maior atividade dessa enzima ($8,39 \mu\text{mol } \gamma\text{-glutamilhdroxamato g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$), comparado com as maiores quantidades de nitrato (100/0 e 75/25) (Figura 3.14 B).

Figura 3.14 – Atividade das enzimas redutase do nitrato – NR (A) e sintetase da glutamina – GS (B) na folha +1 e raízes das plantas de cana-de-açúcar cultivadas com diferentes formas de N. MF: biomassa fresca de tecido vegetal. Letras diferentes indicam diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre tratamentos.

A maior atividade da GS nas raízes de plantas alimentadas com nitrato, comparada com plantas alimentadas com amônio, pode ser explicada pela necessidade de assimilação deste cátion no local de absorção, para evitar problemas com a toxidez de NH_4^+ (BRITTO; KRONZUCKER, 2013). Os resultados indicaram que o nitrato pode ter sido assimilado nas próprias raízes das plantas, em quantidades superiores às de amônio. Isto porque baixa quantidade de NO_3^- foi encontrada tanto nas folhas, como em raízes das plantas. Além disso, a atividade da GS nas raízes foi maior com o suprimento de nitrato, comparado com o de amônio. Desta forma, os resultados enzimáticos da NR e GS mostraram que a cana-de-açúcar tem habilidade para assimilar tanto NO_3^- como NH_4^+ nas raízes e nas folhas, contudo as raízes parecem desempenhar papel importante na assimilação de nitrato em plantas de cana-de-açúcar.

Cruz et al. (2006) demonstraram que a atividade da GS desempenha importante papel na tolerância das plantas ao amônio. Além disso, a desidrogenase do glutamato (GDH) também tem sido apontada como desintoxicante do amônio nas raízes das plantas (LASA et al., 2002; MAJEROWICZ; KERBAUY, 2002; TERCE-LAFORGUE et al., 2004). Essa assimilação de amônio nas raízes demanda esqueletos de carbono, originados a partir do ciclo de ácido tricarboxílico na parte aérea das plantas. Estudos revelam que espécies de plantas com maior atividade da GS em elevadas concentrações de NH_4^+ podem apresentar maior tolerância à nutrição amoniacal (CRUZ et al., 2006; LI et al., 2010).

A partir dos resultados deste trabalho é possível inferir que grande parte do NO_3^- absorvido pelas raízes da cana-de-açúcar é provavelmente assimilada nesse mesmo órgão vegetal. Essa hipótese é suportada não só pela maior atividade da GS na raiz em plantas supridas com NO_3^- , comparada às plantas que receberam maiores quantidades de NH_4^+ , que preferencialmente assimilam este íon nas raízes, mas também reforçado pelo empobrecimento da abundância de ^{15}N nas raízes (Figura 3.13), visto que a absorção de nitrato não causa fracionamento na planta e a redução do NO_3^- à NH_4^+ causa enriquecimento do $\delta^{15}\text{N}$. Dessa forma a assimilação de NH_4^+ , responsável pelo empobrecimento na planta em $\delta^{15}\text{N}$, foi significativa neste caso. A hipótese também é suportada pelas baixas quantidades de N-NO_3^- acumulada pelas plantas nos órgãos vegetais (Figura 3.7).

3.3.10 Conteúdo de proteína solúvel

As formas de N fornecidas às plantas influenciaram o conteúdo de proteína solúvel nas folhas e raízes das plantas de cana-de-açúcar, contudo não afetaram o teor de proteína nos colmos (Figura 3.15). O fornecimento único de NO_3^- diminuiu o teor de proteína em cerca de 20% na folha e 50% na raiz, comparado aos demais tratamentos. Isso pode ter ocorrido em razão da maior produção de biomassa seca das folhas e raízes nesse tratamento (Figura 3.4), como resultado de um efeito de diluição da quantidade de proteínas. Raab e Terry (1994) relataram aumento de 4,3 vezes no teor de proteína solúvel nas folhas de beterraba crescidas com NH_4^+ comparada com as crescidas com NO_3^- e Horchani et al. (2010) encontraram aumento no teor de proteína solúvel nas folhas (~1,5 vez) e raízes (~2,5 vezes) de plantas de tomate cultivadas com 7,5 mM de NH_4^+ , comparado com 7,5 mM de NO_3^- .

Figura 3.15 – Conteúdo de proteína solúvel, em mg de proteína por grama de biomassa fresca, dos tecidos da raiz, colmo e folha +1 de plantas de cana-de-açúcar cultivadas com formas de N. Letras diferentes indica diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre tratamentos.

Verificou-se que a quantidade de proteínas solúveis foi de 4 a 6 vezes e 7 a 9 vezes maior nas folhas do que nas raízes e colmos em plantas supridas com NO_3^- e NH_4^+ , respectivamente. Ou seja, nas folhas, independente do tratamento, o amônio livre foi incorporado em aminoácidos e posteriormente em proteínas solúveis. Plantas cultivadas exclusivamente com NH_4^+ normalmente apresentam alta capacidade para formação de proteínas solúveis (LASA et al., 2002), refletindo em

aumentos da concentração de enzimas associadas à bioquímica da fotossíntese (RAAB; TERRY, 1994).

3.3.11 Conteúdo de MDA, H₂O₂ e atividade de enzimas antioxidantes (CAT, GR, SOD)

A possibilidade das espécies reativas de oxigênio (ERO's) causar dano aos componentes celulares foi estimada pela peroxidação lipídica e formação de peróxido de hidrogênio. Incrementos no conteúdo de MDA (nmol g⁻¹ MF) indicando peroxidação lipídica nas raízes, colmo, e folha+1 das plantas de cana-de-açúcar foram observados em função da forma de N fornecida na solução nutritiva às plantas (Figura 3.16 A). O conteúdo de MDA no colmo foi maior nos tratamentos com proporções de NO₃⁻/NH₄⁺ ≥ 1 (100/0, 75/25 e 50/50), contudo, resposta contrária ocorreu nas raízes e folha+1 das plantas, que tiveram maior produção de MDA nos tratamentos com maiores proporções de NH₄⁺ (Figura 3.16 A). O conteúdo de H₂O₂ (μmol g⁻¹ MF), por sua vez, também foi influenciado pela forma de N. Nas raízes o fornecimento das maiores quantidades de NH₄⁺ (25/75 e 0/100) diminuiu a produção de H₂O₂ comparado aos demais tratamentos e no colmo a utilização de NO₃⁻ não foi tão indutor à produção de H₂O₂ quanto à produção de MDA (Figura 3.16). A maior quantidade de H₂O₂ produzida pela planta (~90% do total) foi encontrada nas folhas, contudo esta não foi influenciada pelas proporções de NO₃⁻/NH₄⁺. Dessa forma, aparentemente as formas de N afetaram principalmente a peroxidação lipídica nas plantas, mas a resposta das plantas às formas de N foi variável dependendo do compartimento vegetal analisado.

A atividade da CAT no colmo e F+1 das plantas de cana-de-açúcar sofreu influência da forma de N fornecida na solução nutritiva às plantas. Quantitativamente a atividade desta enzima foi maior no colmo, com valores de 120 a 150 μmol/min/mg de proteína, sendo as maiores atividades encontradas em plantas supridas com NO₃⁻, comparado aos demais tratamentos (Figura 3.17 A). O oposto ocorreu para a atividade da CAT nas folhas, que foi maior (120 μmol/min/mg) em plantas supridas com NH₄⁺; valores esses 35% maiores nas plantas supridas com as maiores quantidades de NO₃⁻. A maior atividade da CAT nas folhas de plantas supridas com NH₄⁺ pode estar relacionada com a maior fotorrespiração observada durante a nutrição amoniacal.

Figura 3.16 – Peroxidação lipídica, expressa pelo conteúdo de MDA ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF), e conteúdo de H_2O_2 ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em plantas de cana-de-açúcar cultivada com proporções de nitrato e amônio. Médias seguidas de mesma letra em cada compartimento da planta não se diferem entre si pelo teste de LDS ao nível de 5% de probabilidade.

A atividade da SOD no colmo e folha + 1 das plantas de cana-de-açúcar não foi influenciada pelas formas de N. Por outro lado, a atividade da SOD nas raízes de plantas supridas apenas com NO_3^- (139 U/mg de proteína) foi cerca de 70% superior à de plantas nutridas com maior quantidade de NH_4^+ (~80 U/mg de proteína) (Figura 3.17 B). Quantitativamente a maior atividade da SOD foi encontrada no colmo (50-60%), seguida da raiz (30-40%) e da folha +1 (~10%).

A atividade da GR nas raízes representou de 50-60% da atividade total da enzima nas plantas e foi influenciada pelas formas de N, sendo que em proporções de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ maiores que 1 a atividade da GR foi aumentada, chegando a 2,12 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína nesse órgão (Figura 3.17 C). No colmo as formas de N não afetaram a atividade da GR, e nas folhas houve pequena diferença entre os tratamentos, sendo que o suprimento único de NH_4^+ aumentou a atividade da GR comparado com plantas que receberam 75/25 e 50/50 de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, respectivamente.

Figura 3.17 – Atividade das enzimas catalase (CAT) (A), desmutase do superóxido (SOD) (B) e redutase da glutatona (GR) (C) nas raízes (□), colmo (■) e folha +1 (▨) de plantas de cana-de-açúcar cultivada com formas de N, por 163 dias. Letras diferentes indicam diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre tratamentos em cada compartimento.

A atividade das enzimas antioxidantes fornece informações sobre a resposta contra a produção de ERO's dentro das organelas e células vegetais. As ERO's são produzidas continuamente no metabolismo celular e servem como moléculas sinalizadoras produzidas sobre condições de estresse biótico ou abiótico, que dependendo da sua concentração podem causar danos oxidativos em proteínas importantes, causando injúria e até mesmo a morte celular (MULLINEAUX; BAKER, 2010). No presente estudo, as plantas de cana-de-açúcar crescidas em distintas proporções de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ apresentaram algumas modificações na atividade de enzimas antioxidantes. De modo geral, plantas crescidas na presença de NO_3^- tiveram maior conteúdo de MDA no colmo e de H_2O_2 nas raízes, maior atividade da SOD e GR nas raízes e de CAT no colmo, porém menor atividade da CAT nas folhas, comparado com plantas nutridas com NH_4^+ . Guo et al. (2005) propuseram que os maiores níveis de ERO's em plantas nutridas com NH_4^+ resultaria em maior concentração de H_2O_2 nas folhas de feijão (*Phaseolus vulgaris*). Dessa forma, os

resultados encontrados no presente estudo indicam que a nutrição amoniacal parece não estar relacionada ao estresse oxidativo em plantas de cana-de-açúcar. Lee et al. (2013) relataram que plantas cultivadas com excesso de NH_4^+ podem produzir maiores quantidades de prolina e sacarose, que por sua vez podem fornecer uma proteção contra os danos de estresse oxidativo às plantas. Os autores relataram que vários trabalhos propõem a prolina e a sacarose como antioxidantes, devido a sua capacidade de eliminar ERO's e reduzir os níveis de radicais livres.

Investigações associando o estresse oxidativo com a fitotoxidez por amônio ainda não são totalmente esclarecidas, pois trazem resultados conflitantes. Domínguez-Valdivia et al. (2008) avaliaram o efeito da nutrição amoniacal em planta tolerante (ervilha) e sensível (espinafre) ao amônio e relataram que o estresse originado a partir da aplicação de NH_4^+ como única fonte de N não era estresse oxidativo, independente da tolerância das plantas; ao contrário, o estresse por amônio diminuiu os danos oxidativos em plantas de espinafre. Por outro lado, Polesskaya, Kashirina e Alekhina (2004) observaram que a atividade de várias enzimas antioxidantes foi significativamente maior em folhas e raízes de plantas de trigo supridas unicamente com amônio. Podgórska et al. (2013) encontraram aumento das espécies reativas de oxigênio e no acúmulo de biomoléculas oxidadas, (MDA e H_2O_2) pela presença de radicais livres em plantas de *Arabidopsis thaliana* nutridas com amônio. Também, Wang et al (2016) relataram que a toxidez de NH_4^+ pode induzir o acúmulo de ERO's, causando dano oxidativo e induzindo a morte de *Lemna minor* (espécie de planta aquática). Em tais condições, o sistema enzimático antioxidante foi ativado para eliminar as ERO's.

Embora seja apontado que a redução do nitrato pode consumir o excesso de equivalentes redutores e desse modo reduzir o estresse oxidativo (BLOOM; SUKRAPANNA; WARNER, 1992; ESCOBAR; GEISLER; RASMUSSEN, 2006) ainda não está claro se a presença de NO_3^- aliviando a toxicidade de amônio está realmente relacionada com a redução do estresse oxidativo (HACHIYA et al., 2012).

3.4 Conclusões

Embora o amônio tenha sido apontado como a fonte preferencial na absorção de N pela cana-de-açúcar (ROBINSON et al. 2011) e os resultados deste trabalho de pesquisa tenham apontado para alta eficiência de absorção e transporte do N

absorvido como o amônio pelas plantas em comparação ao N-nitrato, foi evidenciado que a nutrição exclusivamente amoniacal não sustentou eficientemente o crescimento das plantas em solução nutritiva, causando drástica redução no índice de área foliar, na produção de biomassa seca, no acúmulo de nutrientes e na atividade fotossintética das plantas.

Apesar de o nitrato não ser acumulado significativamente nos vacúolos nas plantas de cana-de-açúcar, como ocorre em outras espécies, a cana-de-açúcar evidenciou utilizar eficientemente o NO_3^- , como indicado pelo melhor crescimento e nutrição em plantas supridas somente com esta fonte de N. Os resultados indicaram que a redução e a assimilação do nitrato podem ocorrer principalmente nas raízes das plantas de cana-de-açúcar.

Ocorreu discriminação na relação $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ nos compartimentos vegetais de plantas de cana-de-açúcar nutridas com fonte nítrica e/ou amoniacal, sendo que a nutrição nítrica tende a enriquecer as plantas enquanto a nutrição amoniacal tende empobrecê-las. Não houve discriminação isotópica do $\delta^{15}\text{N}$ na planta-inteira de cana-de-açúcar nutrida com NO_3^- em relação à fonte de N.

A nutrição amoniacal não aumentou as atividades de enzimas oxidantes nas plantas de cana-de-açúcar, mostrando pouca influência no estresse oxidativo, nas condições em que o experimento foi desenvolvido.

Referências

ÅGREN, G.; FRANKLIN, O. Root: shoot ratios, optimization and nitrogen productivity. **Annals of Botany**, Oxford, v. 93, p. 795-800, 2003.

ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, Oxon, v. 24, p. 1337-1344, 2001.

ANDREWS, M. LEA, P.J.; RAVEN, J.A.; LINDSEY, K. Can genetic manipulation of plant nitrogen assimilation enzymes result in increased crop yield and greater N-use efficiency? An assessment. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 145, p. 25-40, 2004.

ANDREWS, M.; RAVEN, J.A.; LEA, P.J. Do plants need nitrate? The mechanisms by which nitrogen form affects plants. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 163, p. 174, 199, 2013.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 55, p. 373-399, 2004.

ANTEN, N.P.R.; WERGER, J.A.M.; MEDINA, E. Nitrogen distribution and leaf area indices in relation to photosynthetic nitrogen use efficiency in savanna grasses. **Plant Ecology**, Dordrecht, v. 138, p. 63-75, 1998.

ARIZ, I.; CRUZ, C.; MORAN, J.F.; GONZÁLEZ-MORO, M.B.; GARCÍA-OLAVERRI, C.; CONZÁLEZ-MURUA, C.; MARTINS-LOUÇÃO, M.A.; APARICIO-TEJO, P.M. Depletion of the heaviest stable N isotope is associated with $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ toxicity in NH_4^+ -fed plants. **BMC Plant Biology**, London, v. 11, n. 83, 2011.

ARMAS, R. de; VALADIER, M.H.; CHAMPIGNY, M.L.; LAMAZE, T. Influence of ammonium and nitrate on the growth and photosynthesis of sugarcane. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 140, p. 531, 535, 1992.

AZEVEDO, R.A.; ALAS, R.M.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and catalase-deficient mutant of barley. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v. 104, p. 280-292, 1998.

BALKOS, K.D.; BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. Optimization of ammonium acquisition and metabolism by potassium in rice (*Oryza sativa* L. cv. IR-72). **Plant, Cell and Environment**, Oxon, v. 33, p. 23–34, 2010.

BARRIE, A.; PROSSER, S.J. Automated analysis of light-element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry. In: BOUTTON, T.W.; YAMASAKI, S. (Ed.) **Mass spectrometry of soils**. New York: Marcel Dekker, 1996, p. 1-46.

BASTIAANS, L.; ROUMEN, E.C. Effect on leaf photosynthetic rate by leaf blast for rice cultivars with different types and levels of resistance. **Euphytica**, Wageningen, v. 66, p. 81-87, 1993.

BHOM, W. **Methods of studying root systems**. New York: Springer-Verlag, 1979, 189 p.

BIGGS, I.M. **An investigation of sugarcane nitrogen physiology: sources, uptake, and metabolism**. 2003. 155p. Thesis (Doctor of Philosophy) - School of Life Sciences, The University of Queensland, Brisbane, Australia, 2003.

BITTSÁNSZKY, A.; PILINSZKY, K.; GYULAI, G.; KOMIVES, T. Overcoming ammonium toxicity. **Plant Science**, Limerick, v. 231, p. 184-190, 2015.

BLOOM, A.J. Nitrogen as a limiting factor: crop acquisition of ammonium and nitrate. In: JACKSON, L.E. (ed) **Ecology in Agriculture**. San Diego: Academic Press, 1997. p. 145–172.

BLOOM, A.J.; SUKRAPANNA, S.S.; WARNER, R.L. Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley. **Plant Physiology**, Rockville, v. 99, p. 1294–1301, 1992.

BOUMA, T.J.; NIELSEN, K.L.; KOUTSTAAL, B. Sample preparation and scanning protocol for computerized analysis of root length and diameter, **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 218, p. 185-196, 2000.

BOUMA, T.J.; NIELSEN, K.L.; VAN HAL, J.; KOUTSTAAL, B. Root system topology and diameter distribution of species from habitats differing in inundation frequency. **Functional Ecology**, Oxford, v. 15, p. 360-369, 2001.

BORGES, B.M.M.N.; ALMEIDA, T.B.F.; PRADO, R.M. Response of sugarcane ratoons to nitrogen without and with the application of silicon. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 39, p. 793-803, 2016.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRAUER, E.K.; SHELP, B.J. Nitrogen use efficiency: re-consideration of the bioengineering approach, **Botany**, Ottawa, v. 88, p. 103-109, 2010.

BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 159, p. 567-584, 2002.

BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. Nitrogen acquisition, PEP carboxylase, and cellular pH homeostasis: new views on old paradigms. **Plant, Cell and Environment**, Oxon, v. 28, p. 1396-1409, 2005.

BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. Ecological significance and complexity of N-sources preference in plants. **Annals of Botany**, Oxford, v. 112, p. 957-963, 2013.

BRITTO, D.T.; SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M.; KRONZUCKER, H.J. Futile transmembrane NH_4^+ cycling: A cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants. **Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America**, Washington, v. 98, p. 4255-4258, 2001.

BUEGE, J.A.; AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, San Diego, v. 52, p. 302-310, 1978.

CAMARGO, M.S.; AMORIM, L.; GOMES-JÚNIOR, A.R. Silicon fertilization decreases brown rust incidence in sugarcane. **Crop Protection**, Guildford, v. 53, p. 72-79, 2013.

CHEN, G.; GUO, S.W.; KRONZUCKER, H.J.; SHI, W.M. Nitrogen use efficiency (NUE) in rice links to NH_4^+ toxicity and futile NH_4^+ cycling in roots. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 369, p. 351-363, 2013.

CIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 59, p. 309-314, 1977.

CLARKSON, D.T. Regulation of the absorption and release of nitrate by plant cells: a review of current ideas and methodology. In: LAMBERS, H.; NEETESON, J.J.; STULEN, I. (Eds.), **Fundamental Ecological and Agricultural Aspects of Nitrogen Metabolism in higher Plants**, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 1986, p. 3–27.

COSKUN, D.; BRITTO, D.T.; LI, M.; BECKER, A.; KRONZUCKER, H.J. Rapid ammonia gas transport accounts for futile transmembrane cycling under $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ toxicity in plant roots. **Plant Physiology**, Rockville, v. 163, p. 1859–1867, 2013.

COSKUN, D.; BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. The nitrogen-potassium intersection: Membranes, metabolism, and mechanism. **Plant and Cell Environment**, [online], 2015. doi: 10.1111/pce.12671.

CRAMER; M.D.; LEWIS, O.A.M. The influence of nitrate and ammonium nutrition on the growth of wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) plants. **Annals of Botany**, Oxford, v. 72, p. 359–365, 1993.

CRUZ, C.; BIO, A.F.M.; DOMÍNGUEZ-VALDIVIA, M.D.; APARICIO-TEJO, P.M.; LAMSFUS, C.; MARTINS-LOUÇÃO, M.A. How does glutamine synthetase activity determine plant tolerance to ammonium? **Planta**, New York, v. 223, p. 1068-1080, 2006.

DAI, J.; DUAN, L.; DONG, H. Comparative effect of nitrogen forms on nitrogen uptake and cotton growth under salinity stress, **Journal of Plant Nutrition**, Jena, v. 38, p. 1530-1543, 2015.

DANIAL, D.L.; PARLEVLIET, J.E. Effects of nitrogen fertilization on disease severity and infection type of yellow rust on wheat genotypes varying in quantitative resistance. **Journal of Phytopathology**, Davis, v. 143, p. 679–681, 1995.

DAT, J.; VANDENABEELE, S.; VRANOVA, E.; VAN MONTAGU, M.; INZE, D.; VAN BREUSEGEM, F. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. **Cellular and molecular life sciences**, Basel, v. 57, p. 779-795, 2000.

DEVADAS, R.; SIMPFENDORFER, S.; BACKHOUSE, D.; LAMBD, D.W. Effect of stripe rust on the yield response of wheat to nitrogen. **The Crop Journal**, Beijing, v. 2, p. 201–206, 2014.

DEVIIENNE-BARRET, F.; JUSTES, E.; MACHET, J.M.; MARY, B. Integrated control of nitrate uptake by crop growth rate and soil nitrate availability under field conditions, **Annals of Botany**, Oxford, v. 86, p. 995-1005, 2000.

DOMÍNGUEZ-VALDIVIA, M.D.; APARICIO-TEJO, P.M.; LAMSFUS, C.; CRUZ, C.; MARTINS-LOUÇÃO, M.A.; MORAN, J.F. Nitrogen nutrition and antioxidant metabolism in ammonium-tolerant and –sensitive plants. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 132, p. 359-369, 2008.

DONG, Y.; ZHI, H.H.; ZHAO, Q.; GUAN, J.F. $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratios affect plant growth, chlorophyll content, respiration rate, and morphological structure in *Malus hupehensis* seedlings. **Journal of Forest Research**, Tokyo, v. 26, p. 983-991, 2015.

DRAKE, B.G.; GONZÁLEZ-MELER, M.A.; LONG, S.P. More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO₂? **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 48, p. 609–639, 1997.

ELLIOTT, W. H. Isolation of glutamine synthetase and glutamotransferase from green peas. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 201, p. 661-672, 1953.

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

ERICSSON, T. Growth and shoot: root ratio of seedlings in relation to nutrient availability. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 168-169, p. 205-214, 1995.

ESCOBAR, M.A.; GEISLER, D.A.; RASMUSSEN, A.G. Reorganization of the alternative pathways of the Arabidopsis respiratory chain by nitrogen supply: opposing effects of ammonium and nitrate. **The Plant Journal**, Malden, v. 45, p. 775–788, 2006.

ESTEBAN, R.; ARIZ, I.; CRUZ, C.; MORAN, J.F. Review: Mechanism of ammonium toxicity and the quest for tolerance. **Plant Science**, Limerick, v. 248, p. 92-101, 2016 a.

ESTEBAN, R.; ROYO, B.; URARTE, E.; ZAMARREÑO, A.M.; GARCIA-MINA, J.; MORAN, J.F. Both free indole-3-acetic acid and photosynthetic performance are important players in the response of *Medicago truncatula* to urea and ammonium nutrition under axenic conditions. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, [online], v. 7, artigo 140, 2016 b.

EVANS, J.R. Partitioning of nitrogen between and within leaves grown under different irradiances. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v. 16, p. 533–548, 1989.

EVANS, R.D. Physiological mechanisms influencing plant nitrogen isotope composition. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 6, p.121-126, 2001.

EVANS, R.D.; BLOOM, A.J.; SUKRAPANNA, S.S.; EHLERINGER, J.R. Nitrogen isotope composition of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. Cv. T-5) grown under ammonium or nitrate nutrition. **Plant, Cell and Environment**, Oxon, v. 19, p. 1317-1323, 1996.

FOYER, C.H.; SHIGEOKA, S. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. **Plant Physiology**, Rockville, v. 155, p. 93-100, 2011.

FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, E.C.A.; TRIVELIN, P.C.O. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 28, p. 29-41, 2011.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 59, p. 309-314, 1977.

GLOSER, V.; SCHEURWATER, I.; LAMBERS, H. The interactive effect of irradiance and sources of nitrogen on growth and root respiration of *Calamagrostis epigejos*. **New Phytologist**, Lancaster, v. 134, p. 407-412, 1996.

GOMES-JÚNIOR, R.A.; MOLDES, C.A.; DELITE, F.S. Antioxidant metabolism of coffee cell suspension cultures in response to cadmium. **Chemosphere**, Oxford, v. 65, p. 1330-1337, 2006.

GOOD, A.G.; SHRAWAT, A.K.; MUENCH, D.G. Can less yield more? Is reducing nutrient input into the environment compatible with maintaining crop production? **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 9, p. 597-605, 2004.

GOYAL, S.S.; LORENZ, O.A.; HUFFAKER, R.C. Inhibitory effects of ammoniacal nitrogen on growth radish plants. I. Characterization of toxic effects of NH_4^+ on growth and its alleviation by NO_3^- . **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 107, p. 125-129, 1982.

GRANATO, T.C.; RAPER, C.D. Proliferation of maize roots in response to localized supply of nitrate. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 40, p. 263–275, 1989.

GUO, S.; SCHINNER, K.; SATTELMACHER, B.; HANSEN, U.P. Different apparent CO_2 compensation points in nitrate- and ammonium-grown *Phaseolus vulgaris* and the relationship to non-photorespiratory CO_2 evolution. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 123, p. 288-301, 2005.

GUO, S.; ZHOU, Y.; SHEN, Q.; ZHANG, F. Effect of ammonium and nitrate nutrition on some physiological processes in higher plants – growth, photosynthesis, photorespiration, and water relations. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 9, p. 21-29, 2007.

GUPTA, K.J.; BROTMAN, Y.; SEGU, S.; ZEIER, T.; ZEIER, J.; PERSIJIN, S.T.; CRISTEUCU, S.M.; HARREN, F.J.M.; BAUWE, H.; FERNIER, A.R.; KAISER, W.M.; MUR, L.A.J. The form of nitrogen nutrition affects resistance against *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in tobacco. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 64, p. 553-568, 2013.

HACHIYA, T.; WATANABE, C.K.; FUJIMOTO, M.; ISHIKAWA, T.; TAKAHARA, K.; KAMAI-YAMADA, M.; UCHIMIYA, H.; UESONO, Y.; TERASHIMA, I.; NOGUCHI, K. Nitrate addition alleviates ammonium toxicity without lessening ammonium accumulation, organic acid depletion and inorganic cation depletion in *Arabidopsis thaliana* shoots. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 53, p. 577-591, 2012.

HACKETT, C. A method of applying nutrients locally to roots under controlled conditions and some morphological effects of locally applied nitrate on the branching of wheat roots. **Australian Journal of Biological Science**, East Melbourne, v. 25, p. 1169-1180, 1972.

HAJARI, E.; SNYMAN, S.J.; WATT, M.P. Inorganic nitrogen uptake kinetics of sugarcane (*Saccharum* spp.) varieties under in vitro conditions with varying N supply. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 117, p. 361-371, 2014.

HAJARI, E.; SNYMAN, S.J.; WATT, M.P. Nitrogen use efficiency of sugarcane (*Saccharum* spp.) varieties under in vitro conditions with varied N supply. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 122, p. 21-29, 2015.

HANDLEY, L.L.; AUSTIN, A.T.; ROBINSON, D.; SCRIMGEOUR, C.M.; RAVEN, J.A.; HEATON, T.H.E.; SCHMIDT, S.; STEWART, G.R. The ^{15}N natural abundance (delta ^{15}N) of ecosystem samples reflects measures of water availability. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v. 26, p. 185-199, 1999.

HANDLEY, L.L.; SCRIMGEOUR, C.M. Terrestrial plant ecology and ^{15}N natural abundance: the present limits to interpretation for uncultivated systems with original data from a Scottish old field. **Advances in Ecological Research**, New York, v. 27, p. 133-212, 1997.

HAVLIN, J.L.; BEATON, J.D.; TISDALE, S.L.; NESLON, W.L. **Soil fertility and fertilizers**: An introduction to nutrient management. 7th ed. Upper Saddle River: Pearson Education, 2005. 515 p.

HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. kinetics stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 125, p. 189-198, 1968.

HELALI, S.M.; NEBLI, H.; KADDOUR, R.; MAHMOUDI, H.; LACHAËL, M.; OUEGHI, Z. Influence of nitrate – ammonium ratio on growth and nutrition of *Arabidopsis thaliana*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 336, p. 65-74, 2010.

HISCOX, J.D.; ISRAELSTAM, G.F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa v. 57, p. 1332-1334, 1979.

HSIAO, T.C. LÄUCHLI, A. Role of potassium in plant-eater relations. In: TINKER, B.; LÄUCHLI, A. **Advances in plant nutrition**. 2. ed. New York: Praeger Scientific Publishers, 1986. p. 281-312.

HOAGLAND, D.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. California Agriculture Experimental Station, 1950. 347 p. (**Circular**, 347).

HOPKINS, W.G.; HÜNER, N.A.P. **Introduction to plant physiology**. 4th ed. New York: John Wiley & Sons, 2008. 523p.

HORCHANI, F.; HAJRI, R.; ASCHI-SMITI, S. Effect of ammonium or nitrate nutrition on photosynthesis, growth, and nitrogen assimilation in tomato plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 173, p. 610-617, 2010.

HUBER, D.M.; WATSON, R.D. Nitrogen form and plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 12, p. 139-165, 1974.

ILKAEI, M.N.; SHOMEILI, M.; BANITORFIZADEH, M.; MIRSHEKARNEJAD, B.; GOLZARDI, F.; ASHRAFI, S.K.H.; BAGHDADI, B. Study the affiliation of SPAD and leaf nitrogen with total chlorophyll in sugarcane. **International Journal of Advanced Life Sciences**. [online] v. 9, p. 19-23, 2016.

KAHMEN, A.; WANEK, W.; BUCHMANN, N. Foliar delta ^{15}N values characterize soil N cycling and reflect nitrate or ammonium preference of plants along a temperate grassland gradient. **Oecologia**, New York, v. 156, p. 861-870, 2008.

KEEPING, M.G.; RUTHERFORD, R.S.; SEWPERSAD, C.; MILES, N. Provision of nitrogen as ammonium rather than nitrate increases silicon uptake in sugarcane. **AOB Plants**. Oxford, v. 7, plu080. 2015.

KITAJIMA, K.; HOGAN, K.P. Increases of chlorophyll *a/b* ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light. **Plant, Cell and Environment**, Oxon, v. 26, p. 857-865, 2003.

KOLB, K.J.; EVANS, R.D. Influence of nitrogen sources and concentration on nitrogen isotopic discrimination in two barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.). **Plant, Cell and Environment**, Oxon, v. 26, p. 1431-1440, 2003.

KRAUS, T.E.; MCKERSIE, B.D.; FLETCHER, R.A. Paclobutrazol-induced tolerance of wheat leaves to paraquat may involve increased antioxidant enzyme activity. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, 145, 570-576, 1995.

KRONZUCKER, H.J.; SCHJOERRING, J.K.; ERNER, Y.; KIRK, G.J.D.; SIDDIQI, Y.; GLASS, A.D.M. Dynamic interactions between root NH_4^+ influx and long-distance N translocation in rice: insights into feedback processes. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 39, p. 1287-1293, 1998.

KRONZUCKER, H.J.; SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M. Conifer root discrimination against soil nitrate and the ecology of Forest succession. **Nature**, London, v. 385, p. 59-61, 1997.

KRONZUCKER, H.J.; SZCZERBA, M.W.; BRITTO, D.T. Cytosolic potassium homeostasis revisited: ^{42}K -tracer analysis in *Hordeum vulgare* L. reveals set-point variations in $[\text{K}^+]$. **Planta**, New York, v. 217, p. 540-546, 2003.

LAMBERS, H.; RAVEN, J.A.; SHAVER, G.R.; SMITH, S.E. Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v. 23, p. 95-103, 2008.

LAPORTE, M.M.; SHEN, B.; TARCZYNSKI, M.C. Engineering for drought avoidance, expression of Maize NADP-malic enzyme in tobacco results in altered stomatal function. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 699-705, 2002.

LASA, B.; FRECHILLA, S.; APARICIO-TEJO, P.M.; LAMSFUS, C. Role of glutamate dehydrogenase and phosphoenolpyruvate carboxylase activity in ammonium nutrition tolerance in roots. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 40, p. 969-976, 2002.

LEA, P.J.; MORAT-GAUDRY, J.F. **Plant Nitrogen**. Paris, Berlin: Springer -Verlag, 2001. 407 p.

LEE, B.R.; MUNEER, S.; PARK, S.H.; ZHANG, Q.; KIM, T.H. Ammonium-induced proline and sucrose accumulation, and their significance in antioxidative activity and osmotic adjustment. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 35, p. 2655-2664, 2013.

LI, B.; McKEAND, S.E.; ALLEN, H.L. Genetic variation in nitrogen use efficiency of loblolly pine seedlings. **Forest Science**, Madison, v. 37, p. 613-626, 1991.

LI, Q.; LI, B.H.; KRONZUCKER, H.J.; SHI, W.M. Root growth inhibition by NH_4^+ in *Arabidopsis* is mediated by the root tip and is linked to NH_4^+ efflux and GMPase activity. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 33, p. 1529-1542, 2010.

LIU, W. Correlation between specific fine root and mycorrhizal colonization of maize in different soil type. **Frontiers of Agriculture in China**, Xangai, v. 3, p. 13-15, 2009.

LIU, Y.; LAI, N.; GAO, K.; CHEN, F.; YUAN, L.; GUOHUA, M. Ammonium inhibits primary root growth by reducing the length of meristem and elongation zone and decreasing elemental expansion rate in the root apex in *Arabidopsis thaliana*. **Plos one**, São Francisco, v. 8, p. e61031, 2013.

LOPES, M.S.; ARAUS, J.L. Nitrogen source and water regime effects on durum wheat photosynthesis and stable carbon and nitrogen isotope composition. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 126, p. 435-445, 2006.

LOPES, M.S.; NOGUÉS, S.; ARAUS, J.L. Nitrogen sources and water regime effects on barley photosynthesis and isotope signature. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 31, p. 995-1003, 2004.

LU, Y.L.; XU, Y.C.; SHEN, Q.R.; DONG, C.X. Effect of different nitrogen forms on the growth and cytokinin content in xylem sap of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seedlings. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 315, 67-77, 2009.

MAGALHÃES, J.R.; HUBER, D.M. Ammonium assimilation in different plant species as affected by nitrogen form and pH control in solution culture. **Fertilizer Research**, Dordrecht, v. 21, p. 1-6, 1989.

MAJEROWICZ, N.; KERBAUY, G.B. Effects of nitrogen forms on dry matter partitioning and nitrogen metabolism in two contrasting genotypes of *Catasetum fimbriatum* (Orchidaceae). **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 47, p. 249-258, 2002.

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

MARIOTTI, A.; MARIOTTI, F.; CHAMPIGNY, M.L.; AMARGER, N.; MOYSE, A. Nitrogen isotope fractionation associated with nitrate reductase activity and uptake of NO_3^- by Pearl Millet. **Plant Physiology**, Rockville, v. 69, p. 880-884, 1982.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3rd ed. London: Academic Press, 2012. 651 p.

MASSAD, R.S.; TUZET, A.; LOUBET, B.; PERRIER, A.; CELLIER, P. Model of stomatal ammonia compensation point (STAMP) in relation to the plant nitrogen and carbon metabolisms and environmental conditions. **Ecological Modelling**, Amsterdam, v. 221, p. 479-494, 2010.

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

MATTSSON, M.; SCHJOERRING, J.K. Ammonia emission from Young barley plants: influence of N sources, light/dark cycles and inhibition of glutamine synthetase. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 47, p. 477-484, 1996.

MCCORMICK, A.J.; CRAMER, M.D.; WATT, D.A. Changes in photosynthetic rates and gene expression of leaves during a source-sink perturbation in sugarcane. **Annals of Botany**, Oxford, v. 101, p. 89-102, 2008.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A.; KOSEGARTEN, H.; APPEL, T. **Principles of plant nutrition**. 5th ed. Dordrecht: Kluwer Academic, 2001. 849, p.

MEYER, J.; SCHMANN, A.; WOOD, R.; NIXON, D.; VAN DEN BERG, M. Recent advances to nitrogen use efficiency of sugarcane in the South African sugar industry. **Proceeding International Society Sugar Cane Technology**, Veracruz, v. 26, p. 238-246, 2007.

MILLER, A.J.; CRAMER, M.D. Root nitrogen acquisition and assimilation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 274, p. 1-36, 2004.

MULLINEAUX, P.; BAKER, N.R. Oxidative stress: antagonistic signaling for acclimation or cell death?. **Plant Physiology**, Rockville, v. 154, p. 521-525, 2010.

MINOLTA CAMERA. **Manual for chlorophyll meter SPAD-502**. Osaka: 1989. 22 p.

MULDER, E.G.; BOXMA, R.; VAN VENN, W.L. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate reduction in plant tissue. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 10, p. 335-355, 1959.

MULLINEAUX, P.M.; BAKER, N.R. Oxidative stress: antagonistic signaling for acclimation or cell death? **Plant Physiology**, Rockville, v. 154, p. 521-525, 2010.

NAKAMURA, M.; NAKAMURA, T.; TSUCHIYA, T. Advantages of NH_4^+ on growth, nitrogen uptake and root respiration of *Phragmites australis*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 331, p. 463-470, 2010.

ODDEN, W.A. Wheat volatilized ammonia and resulting nitrogen isotopic fractionation. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 980-985, 1989.

OUTLAW JUNIOR, W.H. Current concepts on the role of potassium in stomatal movements. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 49, p. 302-311, 1983.

OWEN, A.G.; JONES, D.L. Competition for aminoacids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, p. 651-657, 2001.

PATTERSON, K.; CAKMAK, T.; COOPER, A.; LAGER, I.; RASMUSSEN, A.G.; ESCOBAR, M.A. Distinct signaling pathways and transcriptome response signatures differentiate ammonium and nitrate-supplied plants. **Plant, Cell and Environment**, Oxon, v. 33, p. 1486-1501, 2010.

PELTIER, G.; THIBAUT, P. Ammonia exchange and photorespiration in *Chlamydomonas*, **Plant Physiology**, Rockville, v. 71, p. 888-892, 1983.

PEUKE, A.D.; GESSLER, A.; RENNENBERG, H. The effect of drought on C and N stable isotopes in different fractions of leaves, stems and roots of sensitive and tolerant beech ecotypes. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 29, p. 823-835, 2006.

PODGÓRSKA, A.; GIECZEWSKA, K.; LUKAWSKA-KUZMA, K.; RASMUSSEN, A.; GARDESTRÖM, P.; SZAL, B. Long-term ammonium nutrition of *Arabidopsis* increases the extrachloroplastic NAD(P)H/NAD(P)⁺ ratio and mitochondrial reactive oxygen species level in leaves but does not impair photosynthetic capacity. **Plant, Cell and Environment**, Oxon, v. 36, p. 2034-2045, 2013.

POLESSKAYA, O.G.; KASHIRINA, E.I.; ALEKHINA, N.D. Changes in the activity of antioxidant enzymes in wheat leaves and roots as a function of nitrogen source and supply. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 51, p. 615-620, 2004.

RAAB, T. K.; TERRY, N. Nitrogen sources regulation of growth and photosynthesis in *Beta vulgaris* L.. **Plant Physiology**, Rockville, v. 105, p. 1159-1166, 1994.

RAVEN, J.A. Acquisition of nitrogen by the shoots of land plants: its occurrence and implications for acid-base regulation. **New Phytologist**, Lancaster, v. 109, p. 1-20, 1988.

ROBERT, C.; BANCAL, M.O.; LANNOU, C.; NEY, B. Quantification of the effects of *Septoria tritici* blotch on wheat leaf gas exchange with respect to lesion age, leaf number, and leaf nitrogen status. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, p. 225-234, 2006.

ROBINSON, D. $\delta^{15}\text{N}$ as an integrator of the nitrogen cycle. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v.16, p. 153-162, 2001.

ROBINSON, N.; BRACKIN, R.; VINALL, K.; SOPER, F.; HOLST, J.; GAMAGE, H.; PAUNGFOO-LONHIENNE, C.; RENNENBERG, H.; LAKSHMANAN, P.; SCHMIDT, S. Nitrate paradigm does not hold up for sugarcane. **Plos One**, São Francisco, v. 6, p. e19045, 2011.

RONEN, R.; GALUN, M. Pigment extraction from liquens with dimethylsulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 24, p. 239-245, 1984.

ROOSTA, H.R.; SCHJOERRING, J.K. Effects of nitrate and potassium on ammonium toxicity in cucumber plants, **Journal of Plant Nutrition**, Jena, v. 31, p. 1270-1283, 2008.

ROSOLEM, C.A.; GIOMMO, J.S.; LAURENTI, R.L.B. Crescimento radicular e nutrição de cultivares de algodoeiro em resposta à calagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 827-833, 2000.

SALSAC, L.; CHAILLOU, S.; MOROT-GAUDRY, J.F.; LESANT, C.; JOLIVET, E. Nitrate and ammonium nutrition in plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 6, p. 805-812, 1987.

SARASKETA, A.; GONZÁLEZ-MORO, M.; GONZÁLES-MURUA, C.; MARINO, D. Nitrogen source and external medium pH interaction differentially affects root and shoot metabolism in *Arabidopsis*. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, [online] v. 7, artigo 29, 2016.

SCHEIBLE, W.R.; LAUERER, M.; SCHULZE, E.D.; CABOCHE, M.; STITT, M. Accumulation of nitrate in the shoot acts as a signal to regulate shoot-root allocation in tobacco. **The Plant Journal**, Malden, v. 11, p. 671–691, 1997.

SCHJOERRING, J.K.; HUSTED, S.; MACK, G.; MATTSSON, M. The regulation of ammonium translocation in plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 883–890, 2002.

SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 4, p. 289-302, 1981.

SIGNORA, L.; SMET, I. de; FOYER, C.H.; ZHANG, H. ABA play a central role in mediating the regulatory effects of nitrate on root branching in *Arabidopsis*. **The Plant Journal**, Malden, v. 28, p. 655-662, 2001.

SONG, W.; MAKEEN, K.; WANG, D.; ZHANG, C.; YEHONG, X.; ZHAO, H.; TU, E.; ZHANG, Y.; SHEN, Q.; XU, G. Nitrate supply affects root growth differentially in two rice cultivars differing in nitrogen use efficiency. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 343, p. 357-368, 2011.

SOUZA, S.R.; FERNANDES, M.S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M.S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006, cap. 9, p. 215-252.

SUZUKI, N.; KOUSSEVITZKY, S.; MITTLER, R.; MILLER, G. ROS and redox signaling in the response of plants to abiotic stress, **Plant, Cell and Environment**, Oxon, v. 35, p. 259-270, 2012.

SWIADER, J.M.; CHYAN, Y.; FREIJI, F.G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 17, p. 1687-1699, 1994.

SZCZERBA, M.W.; BRITTO, D.T.; BALKOS, K.D.; KRONZUCKER, H.J. Alleviation of rapid, futile ammonium cycling at the plasma membrane by potassium reveals K^+ - sensitive and -insensitive components of NH_4^+ transport. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 59, p. 303–313, 2008.

TABUCHI, M.; ABIKO, T.; YAMAYA, T. Assimilation of ammonium ions and reutilization of nitrogen in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, p. 2319-2327, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2013. 954p

TEDESCO, M.J.; VOLKWEISS, S.J.; BOHNEN, H. Análise de solo, plantas e outros materiais. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1985. 95 p. (**Boletim Técnico**, 5).

TEN HOOPEN, F.; CUIN, T.A.; PEDAS, P.P.; HEGELUND, J.N.; SHABALA, S.; SCHJOERRING, J.K.; JAHN, T.P. Competition between uptake of ammonium and potassium in barley and *Arabidopsis* roots: molecular mechanisms and physiological consequences. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, p. 2303–2315, 2010.

TERCE-LAFORGUE, T.; DUBOIS, F.; FERRARIO-MERY, S.; DE CRECENZO, M.A.P.; SANGWAN, R.; HIREL, B. Glutamate dehydrogenase of tobacco is mainly induced in the cytosol of phloem companion cells when ammonia is provided either externally or released during photorespiration. **Plant Physiology**, Rockville, v. 236, p. 4308-4317, 2004.

VIEIRA-MEGDA, M.X. **Transformações do N derivado do fertilizante no solo e a eficiência de utilização pela cultura da cana-de-açúcar cultivada em solo coberto por palha**. 2013. 156 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

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

VON WIRÉN, N.; GOJON, A.; CHAILLOU, S.; RAPER, D. Mechanism and regulation of ammonium uptake in higher plants. In: LEA, P.J.; MOROT-GAUDRY, J.F. (Eds). **Plant Nitrogen**. Berlin; London: Springer Verlag, 2001. p. 61-77.

VULETIĆ, M.; ŠUKALOVIĆ, V.H.T.; MARKOVIĆ, K.; MARKSIMOVIĆ, J.D. Antioxidative system in maize roots as affected by osmotic stress and different nitrogen sources. **Biologia Plantarum**, Dordrecht, v. 53, p. 530-534, 2010.

WALCH-LIU, P.; NEUMANN, G.; FRITZ, B.; ENGELS, C. Rapid effect of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 227-237, 2000.

WANG, J.; ZHOU, Y.; DONG, C.; SHEN, Q.; PUTHETI, R. Effects of NH_4^+ -N/ NO_3^- -N ratios on growth, nitrate uptake and organic acid levels of spinach (*Spinacia oleracea* L.). **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 8, p. 3597-3602, 2009.

WANG, R.Z.; GAO, Q. Photosynthesis, transpiration, and water-use efficiency in two divergent *Leymus chinensis* populations from Northeast China. **Photosynthetica**, Prague, v. 39, p. 123-126, 2001.

WANG, W.; LI, R.; ZHU, Q.; TANG, X.; ZHAO, Q. Transcriptomic and physiological analysis of common duckweed *Lemna minor* responses to NH_4^+ toxicity. **BioMed Central Plant Biology**, London, v. 16, 2016. Disponível em: <<http://bmcpplantbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12870-016-0774-8>>. Acesso em 05 de maio de 2016.

WANG, X.; BELOW, F.E. Cytokinins in enhanced growth and tillering of wheat induced by mixed nitrogen sources. **Crop Science**, Madison, v. 36, p. 121-126, 1996.

WELLBURN, A.R. The spectral determination of chlorophyll a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 144, p. 307-313, 1994.

XIONG, D.; CHEN, J.; YU, T.; GAO, W.; LING, X.; LI, Y.; PENG, S.; HUANG, J. SPAD-based leaf nitrogen estimation is impacted by environmental factors and crop leaf characteristics. **Scientific Reports**, v. 5, número do artigo: 13389, 2015.

YAMAZAKI, J.Y.; SUZUKI, T.; MARUTA, E.; KAMIMURA, Y. The stoichiometry and antenna size of the two photosystems in marine green algae, *Bryopsis maxima* and *Ulva pertusa*, in relation to the light environment of their natural habitat. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, p. 1517-1523, 2005.

YANG, X.; LI, Y.; REN, B.; DING, L.; GAO, C.; SHEN, Q.; GUO, S. Drought-induced root aerenchyma formation restricts water uptake in rice seedlings supplied with nitrate. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 53, p. 495-504, 2012.

YONEYAMA, T.; OMATA, T.; NAKATA, S.; YAZAKI, J. Fractionation of nitrogen isotopes during uptake and assimilation of ammonia by plants. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v. 32, p. 1211-1217, 1991.

YONEYAMA, T.; HANDLEY, L.L.; SCRIMGEOUR, C.M.; FISHER, D.B.; RAVEN, J.A. Variations of the natural abundances of nitrogen and carbon isotopes in *Triticum aestivum*, with special reference to phloem and xylem exudates. **New Phytologist**, Lancaster, v. 137, p. 205-213, 1997.

YONEYAMA, T.; MATSUMARU, K.; USUI, K.; ENGELAAR, W.M.H.G. Discrimination of nitrogen isotopes during absorption of ammonium and nitrate at different nitrogen concentration by rice (*Oryza sativa* L.) plants. **Plant, Cell and Environment**, Oxon, v. 24, p. 133-139, 2001.

ZHANG, H.; FORDE, B.G. Regulation of *Arabidopsis* root development by nitrite availability. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 51-59, 2000.

ZHAO, D.; GLYNN, N.C.; GLAZ, B.; COMSTOCK, J.C.; SOOD, S. Orange rust effects on leaf photosynthesis and related characters of sugarcane. **Plant Disease**, Saint. Paul, v. 95, p. 640-647, 2011.

ZHENG, X.; HE, K.; KLEIST, T.; CHEN, F.; LUAN, S. Anion channel SLAH3 functions in nitrate-dependent alleviation of ammonium toxicity in *Arabidopsis*. **Plant, Cell and Environment**, Oxon, v. 38, p. 474–486, 2015.

4 A 'PREFERÊNCIA' DE ABSORÇÃO POR AMÔNIO CONFERE MAIOR EFICIÊNCIA DE USO DE NITROGÊNIO NA CANA-DE-AÇÚCAR?

Resumo

Uma das estratégias para se aumentar a eficiência de uso de N (EUN) pelas plantas cultivadas é conhecer a forma com que o nutriente é absorvido pelas plantas. Objetivou-se com este estudo avaliar a EUN do $^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$, $\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$, e $(^{15}\text{NH}_2)_2\text{CO}$ aplicados na quarta soqueira de cana-de-açúcar em condições de campo, para verificar se a nutrição amoniacal favoreceria o aproveitamento do N, baseado na ideia atual de que o amônio (NH_4^+) é a fonte mineral 'preferencial' de N pela cana-de-açúcar, em comparação com o nitrato (NO_3^-). Microparcelas de 2 m de comprimento e 1,5 m de largura foram instaladas com a aplicação das fontes nitrato de amônio (NA) e ureia (UR), enriquecidas em ^{15}N , na dose de 100 kg ha^{-1} de N, sendo o NA enriquecido isotopicamente no nitrato (^{15}N -nitrato) ou no amônio (^{15}N -amônio). A EUN da fonte UR foi inferior à do NA em três períodos avaliados e em todos os compartimentos vegetais. Na colheita final da soqueira apenas 26 % do N-fertilizante foi recuperado para a fonte UR e este valor aumentou para 45% para o NA. Não houve diferença na EUN pelas plantas devido à utilização do ^{15}N -nitrato e ^{15}N -amônio. A aplicação do NA marcado no ^{15}N -amônio em comparação com ^{15}N -nitrato não aumentou a EUN na soqueira de cana-de-açúcar. Em um segundo experimento, em condições controladas de casa-de-vegetação, objetivou-se avaliar a resposta de plantas de cana-de-açúcar ao suprimento de nitrato e amônio. Mudanças de cana-de-açúcar foram cultivadas em solução nutritiva, com 15 mM de N fornecido na forma de NA com abundância natural nos isótopos estáveis de N (^{15}N e ^{14}N) por um período de 119 dias. Após este período, metade das plantas receberam o NA enriquecido em ^{15}N no nitrato (^{15}N -nitrato) e a outra metade o NA enriquecido no amônio (^{15}N -amônio); as plantas foram amostradas em quatro tempos (1, 3, 7 e 15 dias após a aplicação do fertilizante – DAAF) para se determinar o aproveitamento dessas formas de N no colmo, folhas expandidas, folhas não expandidas, folhas secas, raízes, parte aérea e planta inteira. Os resultados indicaram que o ^{15}N -amônio resultou em maior EUN em todos os compartimentos no 1º, 3º e 7º DAAF. Contudo, à medida que o ^{15}N -amônio foi se esgotando da solução nutritiva, o ^{15}N -nitrato passou a ser absorvido rapidamente pelo sistema radicular das plantas e no 15º DAAF a maior EUN nas raízes e planta inteira ocorreu quando o ^{15}N -nitrato foi utilizado como fonte de N em detrimento ao ^{15}N -amônio, indicando que a cana-de-açúcar pode aproveitar eficientemente bem as duas formas minerais de N, embora o aproveitamento do amônio seja mais rápido e imediato e do nitrato mais lento e tardio.

Palavras-chave: *Saccharum* spp.; Absorção de N; ^{15}N ; Nitrato de amônio; Ureia

Abstract

One of the key strategies to increase the N use efficiency (NUE) by cultivated plants is understand which N form is predominantly taken up by the plant. The objective of this study was therefore to evaluate the NUE of $^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$, $\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$,

and $(^{15}\text{NH}_2)_2\text{CO}$ applied to sugarcane ratoon under field conditions, to measure if ammoniacal nutrition increases the contribution of fertilizer-N to plants, based on the current thought that sugarcane “prefers” ammonium (NH_4^+) over nitrate (NO_3^-) as N form to be uptake. Microplots with 2 m long and 1.5 m wide were installed using the following ^{15}N -labeled fertilizers: ammonium nitrate (AN) and urea (UR), both applied at a rate of 100 kg N ha^{-1} . The AN was labeled either in NO_3^- ($^{15}\text{N-NO}_3^-$) or NH_4^+ ($^{15}\text{N-NH}_4^+$). Lower NUE was detected when UR was used than AN, regardless the sampling date or plant compartment. At the harvest maturity, only 26 % of the fertilizer-N was recovered in the UR treatment, while 45% of the total applied-N was taken up by the crop when AN was used. There was no difference in the EUN by plants due to the use of $^{15}\text{N-NO}_3^-$ and $^{15}\text{N-NH}_4^+$. The application of AN labeled in $^{15}\text{N-NH}_4^+$ as compared to $^{15}\text{N-NO}_3^-$ did not increase the EUN by sugarcane ratoon. In a second experiment, under controlled condition in greenhouse, the objective was evaluating the response of plants feed with nitrate and ammonium. Seedlings of sugarcane were grown in nutrient solution containing 15 mM N supplied as AN, with natural abundance of N (^{15}N and ^{14}N), for 119 d. After this period, plants received AN-labeled fertilizer (labeled in $^{15}\text{N-NH}_4^+$ or $^{15}\text{N-NO}_3^-$). The plants were sampled at four sampling dates [1, 3, 7 and 15 d after fertilizer application (DAAF)], and separated into stalk, expanded leaves, not fully expanded leaves, dried leaves, roots, shoot and whole plant. The results indicated that $^{15}\text{NH}_4^+$ -N resulted in greater EUN in all compartments on the 1st, 3rd and 7th DAAF than $^{15}\text{NO}_3^-$ -N. However, due to the depletion of the $^{15}\text{NH}_4^+$ -N pool in nutrient solution, $^{15}\text{NO}_3^-$ -N was rapidly taken up by the plants. At 15th DAAF, the higher EUN in roots and whole plant occurred when $^{15}\text{NO}_3^-$ -N was used than $^{15}\text{NH}_4^+$ -N, indicating that sugarcane can efficiently use these two N forms, although NH_4^+ uptake is faster than NO_3^- .

Keywords: *Saccharum* spp.; Nitrogen uptake; ^{15}N ; Ammonium nitrate; Urea

4.1 Introdução

O nitrogênio (N) é o principal nutriente associado ao crescimento das plantas, compondo cerca de 2% da biomassa seca dos vegetais, como constituinte de aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, coenzimas, produtos do metabolismo secundário das plantas, etc (MILLER; CRAMER, 2004). As principais formas de N absorvidas pelas plantas são as inorgânicas de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) e apesar da grande importância para as plantas, apenas cerca de 5% do N total presente no solo se encontra nas formas inorgânicas, sendo a maior fração orgânica (95% do N total). O N-mineral provém principalmente da mineralização do N orgânico ou da adição de fertilizantes minerais ao solo. Em sistemas agrícolas cultivados (condições de solos bem aerados) o nitrato é considerado a forma mais abundante, solúvel e acessível de N para as plantas (MILLER; CRAMER, 2004; GLASS, 2009), enquanto o amônio é considerado menos importante por ser,

normalmente, nitrificado em curto intervalo de tempo, ter baixa solubilidade e apresentar potencial tóxico para as plantas (BRITTO; KRONZUCKER, 2002).

A maioria das culturas agrícolas parece preferir o nitrato ao amônio, apesar do custo energético da absorção e assimilação do nitrato ser consideravelmente maior comparado com o amônio (BRITTO; KRONZUCKER, 2005). Uma possível razão para isso é que, normalmente, o nitrato está presente em concentrações muito maiores na solução dos solos agricultáveis (1-5 mM) que o amônio (20-200 μM) (OWEN; JONES, 2001), principalmente pelas altas taxas de nitrificação que o amônio sofre nos solos tropicais, favorecido pela temperatura ambiente e umidade. O termo “nitrificação” indica a oxidação biológica do NH_4^+ a NO_3^- . Outro fator limitante de aquisição desta fonte de N pelos vegetais é que o amônio é a fonte preferencialmente imobilizada pela biomassa microbiana, muito mais bem distribuída no solo que o sistema radicular das plantas (RECOUS; MARY; FAURIE, 1990; BLOOM, 2015; ENGEL; CHEN; WALLANDER, 2015). Isso possivelmente ocorre devido à menor exigência de energia para assimilação do amônio pelas células microbianas (MURPHY et al., 2003) e, também, porque o amônio pode inibir a assimilação de nitrato (RICE; TIEDJI, 1989), embora a imobilização de nitrato possa ser significativamente aumentada em alguns solos após a adição de restos vegetais, com alta relação C/N (ROCHESTER; CONSTABLE; MACLEOD, 1992; SHINDO; NISHIO, 2005).

A eficiência de uso do N-fertilizante (EUN-F) pela cultura da cana-de-açúcar é baixa, sendo que apenas 20 a 40% do N aplicado na adubação de solo é utilizado pelas plantas (MEYER et al., 2007; FRANCO et al., 2011; VIEIRA-MEGDA et al., 2015); o restante liberado ao ambiente por várias vias ou imobilizado na biomassa microbiana do solo. De acordo com Robinson et al. (2011) o Brasil e as Filipinas estão entre os países com maior EUN-F, onde a relação N exportado/N-fertilizante aplicado é maior que 0,6, enquanto em países como China e Paquistão essa relação é de apenas 0,1 e 0,2, respectivamente. Se considerarmos que a dose de N utilizada com a cana de açúcar que no Brasil está entre 60-120 kg ha^{-1} , mas na Índia e China pode chegar a 400 e 800 kg ha^{-1} , respectivamente (ROBINSON et al., 2011), a quantidade de N liberado ao ambiente é muito grande e pode causar desequilíbrios ambientais, seja pela eutrofização de águas subterrâneas ou emissão de gases potenciais do efeito estufa ou poluidores da atmosfera. Desta forma, cada vez mais há a necessidade de seleção/produção de plantas com alta eficiência de uso de N

(EUN) (HAJARI; SNYMAN; WATT, 2015) e a forma de N absorvida pelas raízes está diretamente relacionada com a EUN (ANDREWS et al., 2013).

Atualmente, muitos trabalhos vêm abordando a importância de se distinguir e conhecer as formas inorgânicas 'preferenciais' de N absorvidas pelas plantas (BOUDSOCQ et al., 2012; ANDREWS et al., 2013; BRITTO; KRONZUCKER, 2013; BLOOM, 2015), uma vez que este fato irá influenciar diretamente no metabolismo, crescimento e produção de culturas agrícolas. A produção das plantas e as perdas do N-mineral dependem da "preferência" de nitrato *versus* amônio, das taxas de nitrificação (e das habilidades das plantas em inibi-las ou estimulá-las), da entrada externa dessas fontes de N mineral (BOUDSOCQ et al., 2012), sendo a EUN também dependente da forma de N absorvida e utilizada (ANDREWS et al., 2013). Contudo, segundo Britto e Kronzucker (2013): "o conceito de fonte "preferencial" de N não é fácil de ser definida e depende de ampla e dinâmica gama de fatores fisiológicos e ambientais, que se sobrepõe ao mesmo tempo, podendo ser válida apenas para uma determinada variedade ou subespécie de planta ou estágio de desenvolvimento".

Algumas espécies de plantas possuem a capacidade de estimular ou inibir a nitrificação, pela liberação de exsudados radiculares (SUBBARAO et al., 2012 e as referências por eles citadas). De acordo com Robinson et al. (2011) os ancestrais da cana-de-açúcar atualmente cultivada apresentavam esta habilidade, sendo capazes de inibir a nitrificação, mantendo o amônio no solo por mais tempo. Neste mesmo trabalho publicado em anos recentes na Austrália, os autores fazem uma longa análise da utilização de fontes minerais (nitrato e amônio) pela cana-de-açúcar. Os autores afirmaram que a cana-de-açúcar assim como seus ancestrais apresentam forte preferência pela absorção do cátion amônio e discriminação na absorção de nitrato, principalmente nos estágios iniciais de crescimento das plantas no campo, deixando esse ânion vulnerável a perdas. Esses resultados se basearam em experimentos desenvolvidos em condições controladas e de campo, utilizando o traçador isotópico ^{15}N e trouxeram implicações práticas para o manejo da adubação no Brasil, contudo algumas características importantes precisam ser consideradas, e muitas vezes não o são.

No Brasil devido ao clima tropical os solos cujos minerais sofreram intensa intemperização são profundos, com baixos conteúdos de matéria orgânica e ricos em cargas variáveis, o que permite a formação de carga líquida positiva, podendo

haver retenção do nitrato, cuja adsorção é predominantemente eletrostática (DYNIA; CAMARGO, 1999); o que resulta em baixas perdas por lixiviação deste ânion (TRIVELIN et al. 2002; OTTO et al., 2016). Ghiberto et al. (2011) estudando a lixiviação no N no ciclo de cana-planta em Latossolo Vermelho eutroférico encontrou perdas por lixiviação de $1,1 \text{ kg ha}^{-1}$ sendo que apenas $0,054 \text{ kg ha}^{-1}$ foram derivados da aplicação de ureia na dose 120 kg ha^{-1} , com 91 mm de drenagem no ciclo. Além disso, devido à dinâmica do N sabe-se que o amônio adicionado ao solo via fertilizante tende a ser nitrificado, pela ação de bactérias *Nitrossomonas* (responsáveis pela oxidação de amônio a nitrito) e *Nitrobacter* (responsáveis pela oxidação do nitrito a nitrato), fazendo com que o N adicionado, independente da fonte do fertilizante mineral, seja acumulado no solo como nitrato. Em climas tropicais a adubação com fontes amoniacais promove em curto prazo aporte predominante de nitrato (CANTARELLA, 2007; MARIANO et al., 2015). Nesse sentido, a avaliação da EUN do fertilizante nitrato de amônio (duplamente marcado - $^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$ e $\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$) na cultura da cana-de-açúcar colhida com queima em um solo arenoso no Brasil mostrou maior recuperação do ^{15}N -nitrato comparado ao ^{15}N -amônio, o que os autores atribuíram à imobilização do amônio pela microbiota do solo, tornando-o assim menos disponível às plantas (VITTI et al., 2002).

Em termos práticos, para que o amônio seja aproveitado preferencialmente pela cana-de-açúcar ele precisa ser absorvido pelas raízes antes que ocorra nitrificação, transformação essa no solo que ocorre relativamente rápido nas condições de clima tropical. No sistema de “cana crua” há um considerável desenvolvimento do sistema radicular das plantas sob a palhada da cana que se encontra em estágio de decomposição mais elevado no solo (VITTI et al., 2008), o que poderia aumentar o aproveitamento do amônio pelas plantas, visto que haveria maior probabilidade de absorção dessa forma de N-mineral pelas raízes, antes que o mesmo fosse nitrificado, principalmente nos primeiros meses, após sua aplicação superficial.

Considerando que a EUN pela planta considera os aspectos de absorção e metabolização do N, a hipótese deste trabalho é a de que em condições de campo, a possível preferência de absorção do amônio pela cana-de-açúcar poderia ser quantificada por meio da técnica do traçador isotópico, utilizando o isótopo ^{15}N . Além disso, em condições controladas a EUN pela fonte amônio é muito maior que o nitrato nos primeiros dias após a aplicação do ^{15}N , mas esta resposta pode ser

modificada com o tempo de exposição das raízes às formas minerais de N. A fim de testar essas hipóteses o trabalho objetivou quantificar a eficiência de uso do ^{15}N -amídico, ^{15}N -nitrato e ^{15}N -amônio por soqueiras de cana-de-açúcar, em condições de campo, analisando também as perdas que cada uma das formas de N geraria no sistema solo-planta após um ciclo de cultivo de soqueira. Nesse mesmo sentido, somente em condições controladas de casa-de-vegetação objetivou-se, também, avaliar a eficiência de uso do ^{15}N -nitrato e ^{15}N -amônio em quatro tempos após a disponibilização das formas minerais marcadas ^{15}N em meio hidropônico.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Experimento em campo

O experimento de campo foi conduzido em área comercial de cultivo, durante o desenvolvimento do quarto ciclo de soqueira da cana-de-açúcar, na safra 2013/2014. O local experimental estava localizado no município de Novo Horizonte/SP (latitude: 21° 32' Sul, longitude: 49° 19' Oeste, a 412 m de altitude) e vinha sendo cultivado com a variedade CTC 15, caracterizada pela rusticidade e alta tolerância à seca, apresentando boa produtividade em todos os cortes, com excelente longevidade de soqueiras. A variedade se adapta bem em ambientes de produção com baixo potencial produtivo, sendo considerada de maturação média/tardia (CTC, 2007). A área estava sendo cultivada há pelo menos 15 anos com cana-de-açúcar no sistema de colheita mecanizada sem despalha a fogo (cana-crua), onde os resíduos vegetais (folhas e ponteiros) são mantidos sobre o solo. O histórico de manejo do local indica aplicação de vinhaça, torta de filtro, cinzas e composto orgânico (ANEXOS A e B – no local 2).

O solo do local foi classificado como Latossolo Vermelho Amarelo distrófico (LVAd) (EMBRAPA, 2013) ou Typic Hapludox (SOIL SURVEY STAFF, 2014). As parcelas experimentais foram caracterizadas quanto aos atributos químicos do solo: acidez ativa ($\text{pH}_{\text{CaCl}_2}$ 0,01 mol L⁻¹), carbono orgânico do solo (COS), disponibilidade de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S-sulfato), acidez potencial (H+Al), saturação de bases (SB) e capacidade de troca de cátions ($\text{CTC}_{\text{pH}7}$), segundo metodologia descrita por Raij et al. (2001), nas camadas de 0-20 e 20-40 cm, antes da instalação do experimento (Tabela 4.1). A determinação do

nitrogênio total do solo (NTS) foi feita em espectrômetro de massas modelo Hydra 20-20 SerCon Co., UK, acoplado a um analisador automático de N ANCA-SGL (BARRIE; PROSSER, 1996). As parcelas foram caracterizadas individualmente, pois elas estavam sendo repetidas pelo terceiro ano consecutivo nos mesmos locais (parcelas estáticas), e, portanto, apresentavam características inerentes ao tratamento empregado. As amostras de solo foram coletadas a 20 cm do sulco de plantio da cana-de-açúcar, no mesmo local da aplicação de fertilizantes, após o corte do 3º ciclo de soqueira.

Tabela 4.1 – Caracterização química e física do solo de cada parcela experimental antes da instalação do experimento

Trat ¹	pH CaCl	COS g dm ⁻³	NTS g kg ⁻¹	P -----	K -----	Ca	Mg	Al	H+A mmol _c dm ⁻³	CT ----	V %	Arg ⁴ -- g kg ⁻¹	Are ⁵ -- g kg ⁻¹
0-20 cm													
CON	4,9	9,1	0,52	8,	2,3	13,	4,5	0,1	31,0	51,1	39,		
NA	4,5	9,9	0,53	7,	1,5		2,7	1,1	27,9	41,2	32,	150	820
UR	4,8	9,3	0,53	8,	1,8	13,	5,0	0,3	23,7	43,7	45,		
Média	4,7	9,4	0,53	8,	1,9	11,	4,1	0,5	27,5	45,3	38,	-	-
20-40 cm													
CON	4,9	6,5	0,38	5,	0,9	12,	4,1	0,2	22,3	40,0	44,		
NA	4,8	6,7	0,42	5,	0,6	12,	3,8	0,3	27,8	44,5	37,	200	784
UR	4,9	7,3	0,37	4,	0,7	12,	3,6	0,1	24,6	41,5	40,		
Média	4,9	6,8	0,39	4,	0,7	12,	3,8	0,2	24,9	42,0	41,	-	-

¹ Tratamentos: CON = controle; NA = nitrato de amônio; UR = ureia. ² COS: Carbono orgânico do solo. ³ NTS: Nitrogênio total do solo. ⁴ Arg: Argila. ⁵ Are: Areia.

O experimento foi instalado em 15 de novembro de 2013, sessenta e cinco dias após o corte mecânico sem despalha a fogo da terceira soqueira da cana-de-açúcar. A biomassa seca da palhada deixada no campo após o corte da soqueira foi quantificada por meio de amostragens em 1 m², com auxílio de gabaritos, em locais escolhidos ao acaso, coletando-se toda palha presente na área de amostragem. Foram realizadas 12 amostragens que constituíram amostras compostas de seis repetições. Após secagem em estufa ventilada a 65°C para determinação da umidade, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey e determinou-se a concentração de macronutrientes, conforme metodologia descrita por Malavolta et al. (1997), bem como o acúmulo de nutrientes dessa palhada. A biomassa seca da palhada presente no campo antes da instalação dos experimentos era de 26,1 Mg

ha⁻¹ e esta continha cerca de 160, 10, 42, 57, 23 e 26 kg ha⁻¹, respectivamente, de N, P, K, Ca, Mg e S. Os teores de K estavam baixos devido à elevada quantidade de chuva que ocorreu ao longo dos seis dias anteriores à amostragem da palhada e totalizou 140 mm. Essa elevada precipitação provavelmente provocou a lixiviação do K presente na palhada, uma vez que este nutriente não faz parte da constituição estrutural da planta, sendo facilmente removido das células vegetais.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições. Os tratamentos constaram da aplicação das fontes de N, na dose de 100 kg ha⁻¹: nitrato de amônio (NA) marcado isotopicamente no ânion nitrato (¹⁵N-nitrato), ou no cátion amônio (¹⁵N-amônio) e ureia (UR). Além disso, foi incluído um tratamento controle, sem adição de N mineral. O fertilizante nitrogenado foi aplicado sob a palha, distante 20 cm do centro da linha da cana-de-açúcar (APÊNDICE E). Adicionalmente ao N, foram aplicados em todos os tratamentos 33 kg ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de superfosfato triplo e 67 kg ha⁻¹ de K₂O na forma de cloreto de potássio, conforme recomendação de Spironelo et al. (1997).

As parcelas experimentais constituíam-se de oito linhas de cana-de-açúcar, cada uma com 15 m de comprimento e espaçamento entre linhas de 1,5 m, totalizando 180 m². No interior de cada parcela instalou-se microparcelas, com dimensão de 2 m de comprimento e 1,5 m de largura, totalizando 3 m², que receberam o fertilizante marcado em ¹⁵N: CO(¹⁵NH₂)₂ – 2,08% de átomos de ¹⁵N; NH₄¹⁵NO₃ – 3,29 % de átomos de ¹⁵N e ¹⁵NH₄NO₃ – 3,098 % de átomos de ¹⁵N. Nas parcelas com nitrato de amônio, portanto, foram instaladas duas microparcelas, sendo uma com aplicação do ¹⁵N-nitrato e outra do ¹⁵N-amônio.

Aos 88, 150 e 253 dias após a aplicação dos fertilizantes (DAAF) foram determinados o Nitrogênio na Planta Proveniente do Fertilizante (NPPF, em % e kg ha⁻¹) e a Eficiência de Uso do N-fertilizante (EUN-F) pelas plantas, segundo metodologia descrita por Trivelin et al. (1994). Para isso foram determinados o acúmulo de N e a abundância de ¹⁵N (% de átomos de ¹⁵N) das plantas em cada um dos tempos de avaliação. O acúmulo de N na planta foi obtido pela multiplicação do teor de N (g kg⁻¹) pela biomassa seca vegetal (kg ha⁻¹).

Nas duas coletas iniciais (88 e 150 DAAF) a quantificação da abundância de ¹⁵N foram feitas a partir da folha +3, considerando que esse órgão representa a abundância média de ¹⁵N nas plantas de cana-de-açúcar, conforme metodologia utilizada por Franco et al., 2011 e Vieira-Megda et al. (2015). A vantagem, neste

caso é que esta avaliação não é destrutiva e preserva integras as plantas da microparcela com fertilizantes- ^{15}N para posteriores amostragens, permitindo avaliações ao longo do desenvolvimento da cultura. Nessas amostragens foram coletadas duas folhas +3 (excluindo-se a nervura central) no centro de cada microparcela, que constituíram uma amostra da linha central de aplicação dos ^{15}N -fertilizantes. Adicionalmente, foram coletadas duas folhas +3 sem a nervura central nas linhas adjacentes, em posições contíguas às microparcelsas que juntas constituíram outra amostra das linhas adjacentes. Após coletadas, as amostras foram enviadas ao laboratório e processadas. No mesmo dia em que as folhas +3 foram coletadas, determinou-se a produção de biomassa seca de plantas de cana-de-açúcar presentes em 2 m de sulco, em outro local na parcela. Aos 88 DAAF foi determinada a biomassa seca total das plantas, enquanto aos 150 DAAF as plantas foram separadas manualmente em folhas secas, colmos e ponteiros. Todo material vegetal presente em 2 m de sulco foi pesado em balança eletrônica para determinação da massa de material vegetal natural, triturado em picadora de cana (colmos e ponteiros), subamostrado, e seco em estufa ventilada de ar a 65°C para determinação da umidade e massa seca de seus componentes. Posteriormente o material vegetal foi moído em moinho tipo Willey e determinou-se o teor de N-total e abundância de ^{15}N (% de átomos de ^{15}N) em espectrômetro de massas HYDRA modelo 20/20 acoplado a um analisador automático de N (SerCon Co., UK).

No dia 25 de julho de 2014 (253 DAAF) foi realizada a colheita das plantas das microparcelsas. A determinação da biomassa seca dos componentes e teor de N ocorreu com metodologia semelhante à feita nas avaliações anteriores. A principal diferença é que foram separados manualmente amostras de folhas secas, ponteiros e colmos presentes em 3 metros de linha, sendo 1 metro na parte central das microparcelsas, e 1 metro de linha de cana em posições contíguas a parte central das microparcelsas nas linhas adjacentes àquela, perfazendo 2 metros de cana. A determinação da % de átomos de ^{15}N foi feita em cada compartimento vegetal (colmos, ponteiros e folhas secas). O tratamento controle (sem adição de N), também foi analisado para determinação da concentração isotópica natural de ^{15}N nas plantas.

Com os valores de abundância em átomos % de ^{15}N e as quantidades de N acumuladas na cana-de-açúcar, realizaram-se os cálculos de NPPF, expressos em

kg ha⁻¹ e de EUN-F, expresso em porcentagem. Os resultados foram obtidos por meio das equações 1 a 5 apresentadas a seguir.

$$NPPF (\%) = \left[\frac{a - b}{c - b} \right] \cdot 100 \text{ --- (1)}$$

$$NPPF_{LC} (kg \text{ ha}^{-1}) = \left[\frac{NPPF_{LC} (\%)}{100} \right] \cdot N - total \text{ --- (2)}$$

$$NPPF_{LA} (kg \text{ ha}^{-1}) = 2 \cdot \left[\frac{NPPF_{LA} (\%)}{100} \right] \cdot N - total \text{ --- (3)}$$

$$NPPF \text{ Total } (kg \text{ ha}^{-1}) = NPPF_{LC} (kg \text{ ha}^{-1}) + NPPF_{LA} (kg \text{ ha}^{-1}) \text{ --- (4)}$$

$$EUN - F (\%) = \frac{NPPF \text{ Total}}{NF} \cdot 100 \text{ --- (5)}$$

Onde: NPPF: Nitrogênio na planta proveniente do fertilizante; a: abundância em átomos de ¹⁵N na planta; b: abundância natural em átomos de ¹⁵N; c: abundância em átomos de ¹⁵N no fertilizante; N-total: nitrogênio total da parte aérea em kg ha⁻¹; LA e LC: linha adjacente e central com aplicação de ¹⁵N-fertilizante, respectivamente; EUN-F: Eficiência de uso do N-fertilizante pela planta (%); NF: dose de N-fertilizante utilizada (kg ha⁻¹).

Na colheita final, além da parte aérea, foi realizada amostragem do sistema radicular das plantas crescidas nas microparcelas (¹⁵N-ureia; ¹⁵N-nitrato, ¹⁵N-amônio) e no tratamento controle. A quantificação da biomassa seca das raízes foi realizada segundo Otto et al. (2009). Para a amostragem do sistema radicular foi utilizada sonda em aço inox, com 0,055 m de diâmetro interno. As amostras foram retiradas de centro a centro de entrelinhas, sendo duas amostras obtidas na posição da linha de cana, no centro da microparcela (ponto A), duas a 0,3 m da linha da cana (ponto B) e duas a 0,6 m da linha da cana (ponto C), cada uma de um lado da linha correspondente a parte central da microparcela, de modo que essas 6 amostras representam todo perfil de solo explorado pelo sistema radicular. Cada ponto (A, B e C) foi coletado na camada de 0-20 e 20-40 cm. A separação das raízes do solo foi realizada em laboratório, utilizando peneiras com malha de 1 mm. As amostras foram lavadas em água corrente, sendo posteriormente secas em

estufa a 65° C, até obtenção da massa constante, para determinação da umidade. As amostras foram então moídas em moinho tipo Willey e pesadas para determinações de N total e % de átomos de ^{15}N , em espectrômetro de massa.

Em cada ponto de amostragem de raízes (A, B e C) foram feitas subamostragens de solo para determinação do nitrogênio no solo proveniente do fertilizante (NSPF), assim como da porcentagem de recuperação dos fertilizantes nas camadas de 0-20 e 20-40 cm de profundidade, segundo metodologia de Trivelin et al. (1994). Para isso, as amostras de solo obtidas nos três pontos de cada parcela experimental foram secas e moídas em moinho de bola para determinações isotópicas. O acúmulo de N-total no solo foi obtido pela multiplicação da massa de solo (kg ha^{-1}) pelo teor de N (g kg^{-1}). A massa de solo (kg ha^{-1}) representada por cada ponto de amostragem foi calculada considerando-se o volume e a densidade de solo. A densidade do solo foi obtida em cada ponto de amostragem ($1,43 \text{ g cm}^{-3}$ a 0-20 e $1,67 \text{ g cm}^{-3}$ a 20-40 cm no ponto A; $1,73$ e $1,72 \text{ g cm}^{-3}$ no ponto B a 0-20 e 20-40 cm, respectivamente e $1,71 \text{ g cm}^{-3}$ no ponto C em ambas as profundidades) pelo método do anel volumétrico (BLAKE; HARTGE, 1986). O volume do solo foi obtido multiplicando-se 6666,67 m lineares (10.000 m^2 dividido por 1,5 m de espaçamento) por 0,2 m (correspondente à camada de solo coletada nas profundidades de 0-20 e 20-40 cm) por 0,3 m (ponto A) ou 0,6 m (ponto B e C) - que representou a faixa de solo para cada ponto de amostragem de solo.

Todos os colmos subterrâneos presentes em 1 m de comprimento na parte central das microparcels e na projeção da linha da cana foram coletados para determinação da biomassa seca e abundância de átomos de ^{15}N . Os colmos subterrâneos foram previamente separados das raízes e solos no campo com auxílio de facão e armazenados em sacos plásticos identificados, sendo mantidos congelados para processamento. Posteriormente foram lavados com bomba de pressão para retirar o excesso de terra, limpos em esmerilhadora de bancada para remoção das raízes e colocados para secar em estufa ventilada à 65°C, sendo posteriormente moído e analisado. A quantidade de colmos subterrâneos foi extrapolada a partir da biomassa seca obtida em 1 m de sulco, considerando haver 6.667 m de sulcos em 1 (um) hectare.

Os dados de temperatura e umidade foram coletados em estação meteorológica, localizada a cerca de 20 quilômetros do local experimental (Figura 4.1) e revelaram boa distribuição de chuvas no período de tempo considerado.

Figura 4.1 – Precipitação diária (mm) e temperatura média (°C) no local experimental, durante o crescimento da 4ª soqueiras da cana-de-açúcar (safras 2013/14). As setas em vermelho indicam a época de adubação e as épocas de amostragens da parte aérea, onde DAAF. = dias após a aplicação dos fertilizantes.

No mesmo dia da adubação da 4ª soqueira da cana-de-açúcar foram instaladas câmaras coletoras de volatilização nas parcelas experimentais. Foi utilizado um coletor aberto (CA) modificado de Alves et al. (2011) e Mariano et al. (2012). Para quantificar do N-NH_3 volatilizado, foi utilizado um coletor estático aberto (CA). O CA foi composto por uma espuma circular de polietileno de 15 cm de diâmetro e 2 cm de espessura e com densidade de $0,02 \text{ g cm}^{-3}$, embebida em 25 ml da solução de ácido fosfórico (5 mol L^{-1} com 5% de glicerina – v/v), a fim de capturar a amônia (NH_3) volatilizada no campo. Esta espuma foi assentada no interior de uma caixa confeccionada de PVC aberta, em uma das faces (face inferior), com dimensões de 14 cm de largura, 14 cm de comprimento e 7 cm de altura. Os coletores foram posicionados horizontalmente a 1 cm da superfície do solo (base aberta da caixa de 14x14x7 cm), com o apoio em hastes metálicas (bases) fixadas ao solo. As bases possuíam 54 cm de comprimento por 14 cm de largura. O CA foi movimentado horizontalmente em quatro posições dentro da base, após cada coleta de espuma. Os fertilizantes nitrogenados (nitrato de amônio e ureia, ambos na dose de 100 kg ha^{-1}) foram colocados na parte interna da base em cada parcela

correspondente, sobre a palha da cana-de-açúcar, sendo que em cada parcela foram instalados dois coletores. No total foram aplicados 2,1 g de N por coletor, equivalente à dose de 100 kg ha⁻¹. Também, foi aplicada a mesma quantidade de fertilizante nas partes externas das bases dos coletores, para evitar o efeito de bordadura. Cada parcela do tratamento controle também foi monitorada por dois coletores. As coletas e as reposições das espumas para quantificar a NH₃ volatilizada foram realizadas 2, 4, 6, 10, 13, 17, 20, 24, 27 e 33 dias após a aplicação dos tratamentos. Após cada coleta, as espumas foram identificadas, armazenadas em sacos plásticos e acondicionadas em congelador (-15°C), até a avaliação, para evitar a contaminação com NH₃ do ar atmosférico.

A determinação da quantidade de N-NH₃ retido nas espumas foi realizada por meio de extração por lavagem com aproximadamente 500 ml de água desionizada. O N-NH₄⁺ das amostras foi determinado utilizando o sistema de análise por injeção em fluxo (FIA), onde em meio alcalino ocorre formação de NH₃, permeável a membrana hidrofóbica (PTFE), com fluxo direcionado a uma cela de condutividade (REIS et al., 1997). A pluviosidade no local foi monitorada diariamente utilizando-se de um pluviômetro.

Os resultados de produção de biomassa seca, acúmulo de nutrientes e perdas de NH₃ estimadas mediante utilização do coletor de volatilização foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo procedimento PROC GLM do SAS (versão 9.3, SAS Institute, Inc., Cary, NC, EUA). Nos casos em que o teste F foi significativo ($P \leq 0,10$) realizou-se a comparação das médias pelo teste de Tukey ao nível de 10% de probabilidade. Para os resultados de nitrogênio na planta proveniente do fertilizante (NPPF) e de eficiência de uso do N-fertilizante (EUN-F) foi utilizado o teste t (LSD) ($P \leq 0,10$) por meio do procedimento PROC TEST do SAS. Todos estes resultados foram apresentados na forma de valores médios, seguidos do erro padrão da média.

4.2.2 Experimento em condições controladas de casa-de-vegetação

Mudas de cana-de-açúcar foram obtidas a partir de mini-toletes extraídos das três gemas centrais de colmos de cana-planta, com cerca de 10 meses de idade. A variedade utilizada foi a CTC 15, como no estudo de campo. Os mini-toletes, de

aproximadamente 3 cm de comprimento, foram levados para germinação das plantas em bandejas plásticas contendo areia lavada e regadas diariamente apenas com água desionizada. Aos vinte e dois dias após o plantio dos mini-toletes em areia, no dia 03 de março de 2015, as mudas foram selecionadas de acordo com a uniformidade de tamanho da parte aérea e do sistema radicular e transplantadas para vasos plásticos contendo 4 litros de solução nutritiva, diluída a 25% da força iônica, em meio aerado. Os vasos utilizados eram pretos e foram pintados externamente com tinta prateada para evitar o aquecimento da solução nutritiva e passagem da luz. O colo das plantas foram envolvidas por espuma de poliuretano e sustentadas com o auxílio de uma tampa de isopor, recoberta por papel alumínio (APÊNDICE F).

Sete dias após o transplântio as plantas receberam a solução nutritiva completa de Hoagland e Arnon (1950), onde foram fornecidos 7,5 mM de NH_4NO_3 , 1 mM KH_2PO_4 , 2 mM MgSO_4 , 5 mM CaCl_2 , 5 mM KCl, 3,5mM de K_2SO_4 além dos micronutrientes: boro (0,5 μM), cobre (0,02 μM), ferro (5 μM), manganês (0,5 μM), molibdênio (0,01 μM) e zinco (0,05 μM). A renovação da solução nutritiva foi feita a cada 10 dias. O pH do meio foi ajustado diariamente para $5,9 \pm 0,1$ com a adição de HCl 0,5 M ou NaOH 0,5 M e o seu valor diário, antes da correção foi anotado. A média diária do pH de todos os vasos foi utilizada para avaliar a evolução do pH da solução nutritiva ao longo do período experimental (Figura 4.2). Foram adicionados aos vasos 7 μM de dicianodiamina (DCD) para evitar a nitrificação do amônio, em toda troca de solução nutritiva, conforme utilizado por Song et al. (2011). Durante a condução do experimento, em todos os vasos, os perfilhos secundários que emergiram foram retirados, sendo conduzindo apenas o perfilho principal oriundo da muda transplantada. O tempo (dias após o transplântio) também foi calculado e expresso como graus dias crescentes (GDDs) na figura de variação do pH com o tempo (Figura 4.2). O GDDs foi calculado pelo acúmulo dos valores diários de temperatura média $[(\text{temp. mínima} + \text{temp. máxima}) / 2]$ descontado da temperatura base (tb). A tb foi tomada como 12°C, por ser considerado o valor mais apropriado para a cultura de acordo com Allison, Pammenter e Haslam (2007).

Figura 4.2 – Variação do pH do meio com o tempo. O pH foi ajustado diariamente para $5,9 \pm 0,1$. A média foi constituída por 40 valores individuais (uma planta por vaso). A seta vermelha indica o momento da aplicação do ^{15}N .

As plantas foram cultivadas com solução natural de NH_4NO_3 por 119 dias (cerca de 4 meses) a fim de se aproximar do período de máxima taxa de acúmulo de N pela cana-planta (OLIVEIRA, 2011; LEITE et al., 2016), o que representou a maior acidificação da solução nutritiva, indicando maior taxa absorção de nutrientes pela planta (Figura 4.2). Após esse período foi então adicionado aos vasos a solução nutritiva marcada no isótopo ^{15}N : $^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$ denominado de ^{15}N -amônio e $\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$ denominado ^{15}N -nitrato, a fim de se avaliar a eficiência de uso do N para cada uma das fontes com o tempo.

O experimento foi desenvolvido em delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro repetições, em esquema fatorial 4×2 . Os fatores de estudo foram a marcação isotópica do nitrato de amônio em dois íons (^{15}N -amônio e ^{15}N -nitrato) e quatro épocas de avaliação (1, 3, 7 e 15 dias após a aplicação do fertilizante - DAAF marcado em ^{15}N). Em cada unidade experimental (vaso) foi utilizado 3,75 L de solução contendo ^{15}N -amônio (2,094 % de átomos em excesso)

ou ^{15}N -nitrato (2,294 % de átomos em excesso) para avaliação da eficiência de uso de cada um dos íons nos tempos propostos; a saber, em cada vaso foram fornecidos 787,5 mg de N, sendo que metade era marcado em ^{15}N . Além disso, em todas as épocas de avaliação também foram colhidas plantas crescidas somente com o fertilizante natural (NH_4NO_3), para determinação dos valores de abundância natural de ^{15}N (% de átomos de ^{15}N) em cada compartimento da planta. Os dados de temperatura e umidade da casa-de-vegetação durante o período de condução do experimento foram registrados com o auxílio de um Data Logger (Figura 4.3). O experimento foi implantado no início de março 2015 e colhido no final de julho de 2015, o que justifica a diminuição das temperaturas médias dentro da casa de vegetação. A média de temperatura na casa de vegetação durante condução do experimento foi de 26,7°C (dia) e 19,5°C (noite).

A altura da planta foi mensurada com trena de 2 metros, sendo tomada medida da altura da base da planta (no nível da tampa do vaso) até a primeira folha da haste ou barbela da bainha conhecida como folha TVD (Top Visible Dewlap), ou folha +1 (sistema de Kuijper), ou seja, a primeira folha com aurícula visível. O diâmetro dos colmos foi medido com paquímetro digital no centro do primeiro internódio do colmo visível, após a base de sustentação da planta.

Em cada tempo de amostragem as raízes foram lavadas com KCl 10 mM e as plantas separadas em folhas expandidas, folhas não expandidas, colmo e raízes (APÊNDICE F), secas a 65°C por 168 horas e analisadas quanto ao conteúdo de N total, % de abundância de átomos de ^{15}N e produção de biomassa seca. Para determinação das concentrações de N-total e abundância de ^{15}N foram pesados aproximadamente 10 mg de material seco moído (contendo cerca de 100 µg de N) e acondicionados em cápsulas de estanho sendo posteriormente levados para um analisador elementar. Os gases originados da combustão foram purificados em uma coluna de cromatografia gasosa e passaram diretamente em um espectrômetro de massas modelo Hydra 20-20 SerCon Co., UK, acoplado a um analisador automático de N ANCA-SGL (BARRIE; PROSSER, 1996). Com os valores de abundância em % átomos de ^{15}N e as quantidades de N acumuladas em cada compartimento da planta foram calculados: nitrogênio na planta proveniente do fertilizante (NPPF) expressos em % e em g planta^{-1} e a eficiência de uso do N-fertilizante (EUN-F), expresso em %, segundo Trivelin et al. (1994).

Figura 4.3 - Valores médios diários de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa do ar (%) na casa de vegetação durante o período de condução do experimento.

A análise estatística foi realizada com o programa SAS (versão 9.3, SAS Institute, Inc., Cary, NC, EUA). Todos os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo procedimento PROC GLM do SAS. Quando o teste F foi significativo ($P \leq 0,05$) as médias das variáveis respostas foram comparadas pelo teste t (LSD) ao nível de 5% de probabilidade.

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Produção de biomassa seca e acúmulo de N em campo

A produção de biomassa seca e o acúmulo de N na parte aérea foram maiores nas plantas dos tratamentos que receberam N, comparado ao controle, nas três épocas avaliadas (88, 150 e 253 DAAF), não tendo as fontes de N (UR e NA) influenciado em tais variáveis (Figura 4.4). Na primeira época de avaliação, 88 DAAF, o acúmulo de biomassa seca no controle foi de $16,8 \text{ Mg ha}^{-1}$, quantidade essa 6,8 e $7,7 \text{ Mg ha}^{-1}$ menor que o NA e UR, respectivamente (Figura 4.4 A),

enquanto o acúmulo de N no controle (93 kg ha^{-1}) foi 67 kg ha^{-1} menor que o NA e 57 kg ha^{-1} menor que a UR (Figura 4.4 D). Na avaliação final, aos 253 DAAF, os tratamentos NA e UR continuavam produzindo maior quantidade de biomassa seca na parte aérea ($41,0$ e $42,5 \text{ Mg ha}^{-1}$, respectivamente) comparado ao controle ($34,3 \text{ Mg ha}^{-1}$) (Figura 4.4 C); o que também ocorreu para o acúmulo de N [$\sim 95 \text{ kg ha}^{-1}$ para o controle que acumulou menos N que os tratamentos adubados ($\sim 138 \text{ kg ha}^{-1}$ na média entre UR e NA) (Figura 4.4 F)]. Durante o ciclo de crescimento da 4ª soqueira da cana-de-açúcar, em 321 dias, a temperatura média foi de $24,5^{\circ}\text{C}$. A precipitação acumulada no período foi de 1214 mm , e esta foi bem distribuída durante a fase de crescimento vegetativo e diminuiu durante a fase final de crescimento da cana-de-açúcar (Figura 4.1). Diante das condições adequadas de temperatura (27°C seria a temperatura ótima para o crescimento vegetativo da cana-de-açúcar segundo Ebrahim et al., 1998), aliada à distribuição regular das chuvas e à adubação nitrogenada, houve aumento na produção de biomassa seca da parte aérea nos tratamentos adubados com N.

Também houve efeito dos tratamentos ($P \leq 0,10$) na produção de biomassa seca da folha seca e colmo aos 150 e 253 DAAF, respectivamente (Figura 4.4 B, C). Os tratamentos NA e UR tiveram a maior produção de folha seca ($9,2$ e $9,8 \text{ Mg ha}^{-1}$, respectivamente) e de colmos ($28,1$ e $28,0 \text{ Mg ha}^{-1}$, respectivamente) em contraste ao controle ($7,9$ e $21,7 \text{ Mg ha}^{-1}$ para folha seca e colmo, respectivamente). Não houve diferença dos tratamentos ($P \leq 0,10$) na produção de biomassa seca do colmo (média de $18,1 \text{ Mg ha}^{-1}$) e ponteiro (média de $5,7 \text{ Mg ha}^{-1}$) aos 150 DAAF; ponteiro, folha seca e raiz aos 253 DAAF ($P \leq 0,10$), que produziram em média, respectivamente: $3,5$, $10,1$ e $2,0 \text{ Mg ha}^{-1}$. Houve efeito dos tratamentos ($P \leq 0,10$) no acúmulo de N no colmo e ponteiro aos 150 (Figura 4.4 E) e no colmo e folha seca aos 253 DAAF (Figura 4.4 F). De modo geral, o tratamento controle acumulou menor quantidade de N nesses compartimentos do que os tratamentos NA e UR. Na avaliação final, por exemplo, o acúmulo de N no colmo no tratamento controle foi de $38,5 \text{ kg ha}^{-1}$, enquanto para UR e NA este acúmulo foi de $65,2$ e $70,7 \text{ kg ha}^{-1}$, respectivamente.

Figura 4.4 - Produção de biomassa seca (A, B, C) e acúmulo de nitrogênio (N) (D, E, F) na parte aérea e nos compartimentos das plantas de cana-de-açúcar de quarta soqueira: colmo, ponteiro, folha seca e raiz em função da aplicação de fontes de N (NA= nitrato de amônio e UR = ureia), na dose de 100 kg ha⁻¹, aos 88 (A, D), 150 (B, E) e 253 (C, F) dias após a aplicação dos fertilizantes (DAAF). Médias indicadas por letras diferentes nos compartimentos indicam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P \leq 0,10$).

Em todos os tratamentos houve aumento na biomassa seca da primeira (88 DAAF) para a segunda (150 DAAF) e da segunda para a terceira (253 DAAF) datas de amostragem. Contudo, o mesmo não ocorreu para o acúmulo de N na planta, que se mantiveram próximas, entre as três épocas amostradas, diminuindo um pouco na terceira amostragem, principalmente nos tratamentos adubados com N (Figura 4.4). Isto ocorre porque há uma defasagem entre os máximos acúmulos de N e o de máximo acúmulo de biomassa seca, sendo que as máximas taxas de acúmulo de N ocorrem antes as de acúmulo de biomassa seca nas plantas de cana-de-açúcar (GAVA et al., 2001; OLIVEIRA, 2011; LEITE et al., 2016). Por esses resultados ficou evidente que a biomassa seca aumentou ao longo das três avaliações, enquanto o acúmulo de N pouco se alterou, sofrendo leve redução de 12 a 22 kg ha⁻¹ de N na parte aérea nos tratamentos adubados dos 88 para os 253 DAAF. Essa redução no teor de N pode ser resultado da emissão foliar de amônia pelas plantas, que durante a maturação fisiológica aumentam a concentração de amônio nas células, como resultado da diminuição da atividade de enzimas que incorporam o N em aminoácidos e ao aumento da fotorrespiração e hidrólise de proteínas (MATTSSON; SCHJOERRING, 2003; SCHJOERRING; HUSTED; MATTSSON, 1998). Altas concentrações de amônio resultam, por sua vez, em maior emissão de amônia, devido ao elevado gradiente de concentração de NH₃ entre as cavidades subestomáticas e a atmosfera (FRANCIS; SCHEPERS; VIGIL, 1993; SCHJOERRING; HUSTED; MATTSSON, 1998), o que diminui a quantidade de N acumulada na planta na fase de maturação fisiológica. Outra possível explicação para essa redução do N acumulado na parte aérea seria a remobilização do N da parte aérea para os órgãos subterrâneos (raízes e colmos subterrâneos) a fim de dar sustentação nutricional a uma futura rebrota da cultura.

O grande problema da fonte amídica (UR) aplicada sobre a palhada da cana-de-açúcar são as perdas decorrentes da volatilização de amônia. Como mencionado a seguir nos resultados, houve neste estudo perdas por volatilização de NH₃ do solo com a utilização da UR. Contudo, apesar disto, as produções de biomassa seca e o acúmulo de N não diferiram entre as fontes UR e NA. Embora este resultado não seja o esperado, devido às perdas de N, é comum este tipo de relato na literatura. Vieira-Megda et al (2015) avaliando a recuperação do ¹⁵N com a utilização de três fontes de N-fertilizante (ureia, sulfato de amônio e cloreto de amônio), na dose de 100 kg ha⁻¹, relataram produção de biomassa similar entre as fontes, inclusive com

maior produção de biomassa na fonte UR aos 130 DAF, apesar e das perdas decorrentes da volatilização de amônia, que foram de 25 kg ha^{-1} nos primeiros 30 dias após a fertilização, conforme quantificadas por Mariano et al (2012) no mesmo local de estudo de Viera-Megda et al (2015). Uma das possíveis explicações para estes resultados pode ser o fato de que as plantas apresentaram capacidade de absorção foliar de amônia. Trabalhos com trigo de inverno (*Triticum aestivum*), café (*Coffea arabica*), gramínea forrageira (*Panicum maximum* cv. Tanzânia) e milho (*Zea mays*) relataram absorção foliar do N-NH_3 volatilizado em até 25, 43, 16, 15 %, respectivamente (SOMMERS et al., 1997; FENILLI et al., 2007; MARTHA JÚNIOR; TRIVELIN; CORSI, 2009; SCHONINGER, 2014). Quando os fertilizantes foram aplicados no presente estudo, as plantas tinham aproximadamente 50 cm de altura, o que pode ter favorecido a reabsorção pela parte aérea do N-NH_3 volatilizado.

4.3.2 Aproveitamento do N-fertilizante pela cana-de-açúcar em condições de campo

O aproveitamento do N-fertilizante foi avaliado por meio da quantidade de N na planta proveniente do fertilizante (NPPF) e da eficiência de uso do N-fertilizante (EUN-F), sendo comparadas as fontes NA *versus* UR e ^{15}N -nitrato *versus* ^{15}N -amônio em três épocas: 88, 150 e 253 DAAF (Tabela 4.2). Para NA e UR, o NPPF e a EUN-F apresentam os mesmos valores numéricos, uma vez que a dose de N-fertilizante foi a mesma e de 100 kg ha^{-1} , e por isso são apresentados conjuntamente na tabela. Para facilitar a discussão será mencionado apenas a EUN-F para comparar NA e UR.

Houve diferença ($P \leq 0,10$) na EUN-F pelas plantas com a utilização das fontes NA e UR, em todos os compartimentos vegetais, nas três épocas avaliadas, com exceção para as raízes de 0-20 cm de profundidade. (Tabela 4.2). Aos 88, 150 e 253 DAAF a contribuição do N-fertilizante da UR na parte aérea das plantas (43,8, 29,2 e 25,6 %, respectivamente) foi menor que a encontrada para NA (64,4, 48,4 e 44,7 %, respectivamente). Isto pode ser decorrente da grande quantidade de palha acumulada no solo após a colheita da cana-de-açúcar, que favoreceu tanto a imobilização de amônio como a volatilização de amônia da fonte UR. Neste estudo, a colheita das soqueiras anteriores acumulou 26 Mg ha^{-1} de palha, quantidade superior ao normalmente relatado entre $10\text{-}20 \text{ Mg ha}^{-1}$ (TRIVELIN et al., 2013

Tabela 4.2 - Nitrogênio na planta proveniente do fertilizante (NPPF) em kg ha^{-1} eficiência de uso do N-fertilizante (%) durante o ciclo da quarta soqueira da cana-de-açúcar em função da aplicação de fontes de N

Fontes de N	Dias após a aplicação dos fertilizantes (DAAF)								
	88	150	253						
	PA	PA	Colmo	Ponteiro	FS	PA	Raiz 0-20 cm	Raiz 20-40	Colmos subterrâneos
----- NPPF (kg ha^{-1}) ou EUN-F (%) ⁽¹⁾ -----									
NA	64,4 a	48,4 a	25,0 a	8,0 a	11,7 a	44,7 a	1,08	0,29 a	0,51 a
UR	43,8 b	29,2 b	12,0 b	6,5 b	7,2 b	25,6 b	1,02	0,09 b	0,29 b
P > F	0,080**	0,036**	0,004**	0,086**	0,059**	0,008**	0,660 ^{NS}	0,025**	0,066**
DMS	18,6	5,4	3,82	1,38	3,54	7,08	0,28	0,12	0,18
CV (%)	20,7	8,4	12,4	11,5	22,6	12,1	16,0	36,5	27,3
----- NPPF (kg ha^{-1}) -----									
NA- ¹⁵ NO ₃ ⁻ ⁽²⁾	34,1	24,4	13,3	4,0	5,2	22,4	0,46	0,20	0,25
NA- ¹⁵ NH ₄ ⁺ ⁽²⁾	30,3	24,0	11,8	4,0	6,5	22,2	0,55	0,09	0,27
P > F	0,562 ^{NS}	0,863 ^{NS}	0,414 ^{NS}	0,986 ^{NS}	0,412 ^{NS}	0,934 ^{NS}	0,507 ^{NS}	0,170 ^{NS}	0,646 ^{NS}
DMS	13,8	6,0	3,7	1,2	3,1	5,9	0,28	0,14	0,13
CV (%)	25,9	14,8	17,6	18,1	32,0	15,9	33,4	59,7	29,8
----- EUN-F (%) -----									
NA- ¹⁵ NO ₃	68,3	48,9	26,5	8,0	10,4	44,9	0,92	0,40	0,49
NA- ¹⁵ NH ₄	60,6	47,9	23,5	8,0	12,9	44,4	1,11	0,18	0,54
P > F	0,563 ^{NS}	0,864 ^{NS}	0,407 ^{NS}	0,986 ^{NS}	0,413 ^{NS}	0,932 ^{NS}	0,506 ^{NS}	0,178 ^{NS}	0,677 ^{NS}
DMS	27,7	11,9	7,3	2,4	6,2	11,9	0,58	0,30	0,26
CV (%)	25,9	14,8	21,7	18,0	32,0	16,0	34,2	61,3	29,8

⁽¹⁾ NPPF (kg ha^{-1}) e EUN-F (%) apresentam os mesmos valores numéricos, uma vez que a dose de N utilizada foi de 100 kg ha^{-1} de N.

⁽²⁾ aplicado na dose de 50 kg ha^{-1} , uma vez que o NA possui duas moléculas de N e apenas uma estava marcada em ¹⁵N.

NA: nitrato de amônio. UR: ureia. NA-¹⁵NO₃⁻: nitrato de amônio marcado no nitrato. NA-¹⁵NH₄⁺: nitrato de amônio marcado no amônio.

PA: parte aérea. FS: folha seca. DMS: Diferença mínima significativa. CV (%): coeficiente de variação.

Médias com letras minúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa ($P \leq 0,10$) entre os tratamentos.

e referências por eles citadas) sendo que este material apresenta elevada relação C/N (80 a 100/1) (ROBERTSON; THORBURN, 2007). A adição de quantidade expressiva de palha ao solo resulta em imobilização significativa do N-fertilizante devido ao aumento da atividade microbiológica para decompor esse material (MEIER et al., 2006) e estudos indicam a microbiota do solo pode imobilizar o amônio preferencialmente ao nitrato (RECOUS; MARY; FAURIE, 1990; RECOUS; MACHET; MARY, 1992; BLOOM, 2015; ENGEL; CHEN; WALLANDER, 2015). O íon amônio é a única forma de N liberada após solubilização e hidrólise do N-amídico da UR, o que favorece sua imobilização, enquanto na fonte NA metade do N está na forma nítrica. Além disso, as perdas do N por volatilização da UR são marcadamente maiores que a do NA quando os fertilizantes são aplicados sobre a superfície da palhada, como relatado a seguir nos resultados (item 4.3.3), e em outros estudos (TRIVELIN et al., 2002; CANTARELLA et al., 2008; MARIANO et al., 2012). Após a hidrólise da molécula de UR pela atividade da enzima urease, que é intensificada, tanto em quantidade como em atividade, na presença de resíduos vegetais (BREMNER; MULVANEY, 1978; TERMAN, 1979), decorrem-se condições favoráveis à volatilização de amônia, com perdas que podem chegar de 20 a 40 % do N aplicado (TRIVELIN et al., 2002; CANTARELLA et al., 2008; MARIANO et al., 2012).

À medida que a planta cresceu, menores foram as contribuições do N-fertilizante em sua nutrição (Tabela 4.2). A eficiência inicial de uso do N-fertilizante foi de 43,8 % para UR e 64,4 % para NA, indicando que o N do fertilizante teve grande importância no crescimento da cana-de-açúcar aos 88 DAF. Na época da colheita (253 DAAF), contudo a eficiência diminuiu para 25,6 e 44,7 %, para UR e NA, respectivamente. Isto pode estar significando que do total de N acumulado pela planta no final do ciclo (138,5 e 136,6 kg ha⁻¹ para NA e UR, respectivamente) apenas 25,6 kg ha⁻¹ foram oriundos da UR e 46,5 kg ha⁻¹ do NA e que outras fontes de N aumentaram a sua contribuição na nutrição da cultura ao longo de ciclo de cultivo. Outras fontes de N possivelmente utilizadas pela cana-de-açúcar incluem o N oriundo: do efeito residual da adubação nitrogenada em anos anteriores (VITTI et al., 2007; FRANCO et al., 2011; FORTES et al., 2013), da mineralização da matéria orgânica do solo (DOURADO-NETO et al., 2010; VIEIRA-MEGDA et al. 2015); da mineralização de resíduos culturais (NG KEE KWONG et al., 1987; TRIVELIN et al., 2013), da fixação biológica do N (URQUIAGA, CRUZ e BODDEY, 1992) ou até

mesmo da absorção de compostos orgânicos de baixo peso molecular, como aminoácidos e peptídeos (VINAL et al., 2012). A redução na EUN-F pode também ter ocorrido em decorrência das perdas de NH_3 foliar, como mencionado anteriormente, liberando para o ambiente o N do fertilizante absorvido e assimilado assim como o N absorvido do solo. Como as máximas taxas de aproveitamento do N-fertilizante ocorreram em estádios anteriores aos 88 DAAF, fator esse também mencionado anteriormente, os resultados de EUN-F posteriores aos 88 DAAF mostraram-se decrescentes.

Parte do N aplicado ao solo como fertilizante e absorvidos pelas plantas retornam ao sistema de cultivo quando a cana é colhida sem queima (cana crua). Os resultados mostram que no momento da colheita entre 14 (UR) a 20 (NA) % do N acumulado na parte aérea estava nas folhas secas e ponteiros, que foram depositados na área após a colheita dos colmos da cana-de-açúcar (Tabela 4.2). Vieira-Megda et al. (2015) avaliaram a recuperação do N-fertilizante para as fontes ureia, sulfato de amônio e cloreto de amônio e encontraram valores de recuperação do N-fertilizante inferiores ao encontrado no presente estudo para a fonte UR, em que as soqueiras acumularam apenas 1 % do N-fertilizante nos ponteiros e 7 % nas folhas secas, com recuperação total na parte aérea de apenas 17,3%. Provavelmente a menor EUN-F da fonte UR naquele estudo, comparado ao deste trabalho (25,6% na parte aérea das plantas) foi decorrente da maior taxa de volatilização que a UR apresentou naquelas condições.

Não houve diferença ($P \leq 0,10$) no aproveitamento do N-fertilizante entre as fontes ^{15}N -amônio e ^{15}N -nitrato em nenhuma época de amostragem (88, 150 e 253 DAAF) (Tabela 4.2). Esperava-se que pelo menos na fase inicial de crescimento, nos primeiros 3 meses, as plantas apresentassem maior eficiência de uso do ^{15}N -amônio, pelas hipóteses levantadas por Robinson et al. (2011) de que a cana-de-açúcar apresenta discriminação contra o nitrato, o que impediria que altas concentrações de nitrato no solo fossem aproveitadas pelas plantas nas fases iniciais de crescimento, deixando este ânion vulnerável às perdas. Além disso, esperava-se que a grande quantidade de raízes superficiais, presentes abaixo da camada de palha no campo no sistema de cana crua (VITTI et al., 2008), favorecesse a absorção de amônio antes que este fosse nitrificado. É importante destacar que o ciclo do N é extremamente dinâmico e não há como assegurar quais formas de N (^{15}N -nitrato, ^{15}N -amônio ou mesmo ^{15}N -orgânico) foram absorvidas

pelas plantas ao longo do ciclo de 253 dias decorridos após a adubação, independente das formas (^{15}N) utilizadas. Provavelmente o N fornecido como ^{15}N -amônio e ^{15}N -nitrato sofreram transformações no solo, como nitrificação, imobilização, mineralização, etc. Dessa forma, pode-se inferir a partir dos resultados do experimento de campo que a adubação com a fonte ^{15}N -amônio ou ^{15}N -nitrato não influenciou na EUN pelas plantas, o que pode ter ocorrido por alguns motivos: i) o ^{15}N -amônio pode ter sido imobilizado pela microbiota do solo que conhecidamente tem preferência por esta fonte de N (RECOUS; MARY; FAURIE, 1990; BLOOM, 2015 ENGEL; CHEN; WALLANDER, 2015), o que impediu que a cana-de-açúcar aproveitasse o N nesta forma química; ii) o ^{15}N -amônio foi rapidamente nitrificado, sendo absorvido apenas na forma nítrica independente da forma fornecida pela adubação. Estudos mostram que em climas tropicais a adubação com fontes amoniacais promove em curto prazo aporte predominantes de nitrato (CANTARELLA, 2007; MARIANO et al., 2015); ou iii) não houve diferença na absorção entre ^{15}N -amônio e ^{15}N -nitrato pela cana-de-açúcar em condições de campo. Um estudo de campo avaliando a EUN do nitrato de amônio (marcado no nitrato ou no amônio, como no presente estudo) na cultura do milho, não encontrou alteração na EUN-F pelas plantas em função da utilização da forma nítrica ou amoniacal (REDDY; REDDY, 1993).

Vários fatores podem influenciar na produção das culturas e nas perdas do N-mineral no solo, influenciando consequentemente na EUN pelas plantas, como relacionado por Boudsocq et al. (2012): a “preferência” das plantas pela absorção da forma nítrica ou amoniacal; as taxas de nitrificação do solo, bem como a habilidade das plantas em inibi-las ou estimula-las; a entrada externa dessas fontes minerais de N. Relacionando estes fatores ao presente estudo há que se considerarem principalmente os dois primeiros, visto que a entrada externa das fontes minerais (nitrato e amônio, fornecidos como NA) foi igual nos tratamentos que comparam a eficiência de uso do ^{15}N -amônio e ^{15}N -nitrato.

É bem relatado na literatura que algumas plantas são capazes de inibir (LATA et al., 2000; SUBBARAO et al., 2007, 2009, 2012) ou estimular (LATA et al., 2000; HAWKES et al., 2005) a nitrificação, alterando assim a quantidade de nitrato e amônio disponível tanto para sua própria nutrição, como para a nutrição de seus competidores. Plantas capazes de inibir a nitrificação conseguem fazer com que o N permaneça na forma amoniacal por mais tempo, o que pode diminuir as perdas

deste nutriente pela lixiviação do nitrato, por exemplo, fazendo com que maior quantidade de N fique disponível à nutrição das plantas (SUBBARAO et al., 2012). Nestes casos, é possível que plantas capazes de inibir a nitrificação tenham maior capacidade de absorção de amônio que de nitrato. É o caso de plantas da espécie *Brachiaria*, principalmente *B. humidicola* e *B. decumbens*, em que ocorre supressão da nitrificação devido à exsudação de braquiolactanas (SUBBARAO et al., 2009; SUBBARAO et al., 2012). Robinson et al (2011) afirmaram que é possível que o ancestral direto da cana cultivada, como *Saccharum spontaneum*, apresente mecanismo semelhante, uma vez que a cana parece apresentar absorção preferencial de amônio, em vez de nitrato. Contudo, Kölln et al. (2016) encontraram pouca significância de extratos de raízes de *S. spontaneum* e *B. humidicola* na inibição da nitrificação no solo. Os autores ainda não encontraram aumento na produção de biomassa ou acúmulo de N nas plantas quando o DCD foi utilizado como inibidor da nitrificação, indicando que a predominância da forma amoniacal no solo não trouxe vantagens nutricionais para as plantas cultivadas em estágios iniciais de desenvolvimento (até 60 dias após a aplicação do fertilizante sulfato de amônio, na dose de 300 mg kg⁻¹ de N). Assim, possivelmente, as variedades comerciais de cana-de-açúcar cultivadas atualmente podem ter perdido a capacidade de inibir a nitrificação, como ocorria com seus ancestrais. Dessa forma, possivelmente todo ¹⁵N-amônio fornecido ao solo neste estudo pode ter sido nitrificado e absorvido pelas plantas em outras formas químicas, principalmente como nitrato, mas também na forma de compostos orgânicos de baixo peso molecular, como aminoácidos (VINALL et al., 2012).

Conhecer a forma de N utilizada pelas plantas é de extrema importância, pois elas atuam diferentemente no metabolismo vegetal podendo influenciar inclusive na produção das culturas (BOUDSOCQ et al., 2012; BRITTO; KRONZUCKER, 2013; BLOOM, 2015). A maior limitação em se obter informações de quais são as formas de N utilizadas por plantas cultivadas em solo é inerente da própria dinâmica do N no solo e das interações entre plantas-solo-microorganismos no sistema (NÄSHOLM; KIELLAND; GANETEG, 2009). Para estudar especificamente a eficiência de uso do nitrato e do amônio, ou a forma “preferencial” de N pelas plantas de cana-de-açúcar, independentemente das transformações de N no solo, desenvolveu-se um estudo em condições controladas e que é discutido na sequência deste capítulo.

4.3.3 Balanço do ^{15}N no sistema solo-planta em condições de campo

O N do NA foi em sua maior parte recuperado pela planta (46,5 % ou seja, 46,5 dos 100 kg ha⁻¹ de N aplicados) e esta quantidade foi superior ($P \leq 0,10$) ao encontrado no tratamento com UR (27,1 %) (Figura 4.5). Por outro lado, a maior parte do N da UR não foi recuperado no sistema solo-planta (51%), quantidade maior à que não foi recuperada com a fonte NA (37,6%).

Figura 4.5 - Balanço de nitrogênio (N) no sistema solo-planta com o fornecimento de N nas formas de nitrato de amônio (NA) e ureia (UR) no cultivo da quarta soqueira da cana-de-açúcar. Letra distinta após o valor percentual indica diferença na recuperação entre as formas de N aplicadas, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,10$).

Um dos fatores responsáveis pelas maiores perdas do N-fertilizante da fonte UR foi a perda de N por volatilização de amônia (NH_3). A perda de NH_3 neste estudo foi medida durante 33 dias após a adubação, por meio de um coletor aberto (CA). Durante este período a pluviosidade totalizou 184 mm. O volume de chuva apresenta grande importância no processo de volatilização de NH_3 , por possibilitar a solubilização e hidrólise enzimática da ureia no solo (PRASERTSAK et al., 2002), além de manter a palhada e superfície do solo com maior umidade, intensificando as perdas de NH_3 junto a evaporação da água do solo (FRENEY et al., 1992). Algumas horas após a aplicação dos fertilizantes ocorreu chuva de 8 mm de intensidade. Provavelmente esta quantidade não foi suficiente para incorporar a UR em superfície e isto desencadeou as perdas de NH_3 por volatilização (Figura 4.6). Estas perdas

atingiram a maior taxa no 4º dia após a instalação dos coletores, após ocorrer outra chuva de mais 7 mm de intensidade (Figura 4.6 A). Isto porque devido à presença de restos vegetais na superfície (palha da cana) maior quantidade de água é requerida para reduzir as perdas de NH_3 por volatilização (HAYSOM, CHAPMAN; VALLIS, 1990), uma vez que a água percorre preferencialmente os canais formados pelos resíduos culturais, reduzindo a capacidade de dissolução e a incorporação da UR ao solo (ROCHETTE et al., 2009). No 5º dia após a instalação dos coletores, ocorreu uma chuva de 23 mm de intensidade, o que provavelmente incorporou a ureia ao solo e praticamente cessou as perdas de N por volatilização (Figura 4.6 A).

Figura 4.6 – Taxa de N-NH_3 volatilizado, em mg de N, por parcela, por dia (A) e N-NH_3 volatilizado acumulado em 33 dias após a adubação (B), estimado pelo coletor aberto.

Do total de N aplicado ($2,1 \text{ g N coletor}^{-1}$), o NA apresentou perdas de N-NH_3 volatilizado acumulado de apenas $0,1\%$ ($2,1 \text{ mg N coletor}^{-1}$) e próximas ao tratamento controle ($1,09 \text{ mg N coletor}^{-1}$). Por outro lado, a ureia perdeu aproximadamente $60 \text{ mg N coletor}^{-1}$, cerca de 55 e 28 vezes mais que o controle e NA, respectivamente (Figura 4.6 B). Essa perda teve sua máxima expressão na primeira semana após a adubação nitrogenada, fato esse também verificado por outros autores (LARA CABEZAS; TRIVELIN, 1990; MARIANO et al., 2012).

Considerando a dose aplicada, de 100 kg ha^{-1} de N, e a eficiência do coletor aberto em captar a amônia volatilizada de 50 a 55% (MARIANO et al., 2012), a perda de N-NH_3 oriundo da ureia neste experimento pode estar entre 5 a 6%, ou seja, $5 \text{ a } 6 \text{ kg ha}^{-1}$ de N aplicado na forma de ureia foi perdido pela volatilização de NH_3 , o que pode ter sido suficiente para resultar em menor recuperação do N-fertilizante da UR comparado ao NA.

Embora não tenha havido diferença na recuperação do N-fertilizante no solo a 0-40 cm de profundidade para as fontes NA e UR (Figura 4.5), diferenças foram constatadas ($P \leq 0,10$) a 0-20 e 20-40 cm de profundidade. A 0-20 cm o NA teve menor recuperação do N-fertilizante que a UR. O inverso foi encontrado para a camada de 20-40 cm, com maior recuperação do N-fertilizante para o NA (Figura 4.7 A). Considerando apenas a fonte NA, a fertilização com ^{15}N -amônio promoveu maior recuperação do N-fertilizante a 0-20 cm comparado com o ^{15}N -nitrato, não havendo diferença na recuperação do N-fertilizante a 20-40 cm para estas fontes (Figura 4.7 B). O amônio, como cátion pode ser adsorvido pela capacidade de troca de cátions (CTC), sendo também imobilizado preferencialmente pelos microorganismos que utilizam esta forma mineral para decompor a grande disponibilidade de C da palhada; o que favorece sua maior recuperação nos primeiros 20 cm de profundidade. O nitrato, por sua vez, é um ânion e por não ser retido na CTC e permanece em solução; o que o caracteriza sua elevada mobilidade no solo [(5 a 10 vezes mais móvel que o amônio e aminoácidos, (OWEN; JONES, 2001)], sendo facilmente lixiviado para camadas mais profundas quando a quantidade de água é suficiente para promover sua percolação.

Figura 4.7 – Recuperação do N-fertilizante, em porcentagem, a 0-20 e 20-40 cm de profundidade no solo com a aplicação de fontes de N: nitrato de amônio e ureia (A) e ^{15}N -nitrato e ^{15}N -amônio (B). Letras minúsculas distintas em cada camada de solo indicam diferenças entre as fontes de ^{15}N .

O balanço do ^{15}N no sistema solo-planta indicou que não houve diferença ($P \leq 0,10$) na quantidade de N não recuperado (média de 38% de perdas) e na quantidade do N-fertilizante recuperada na planta toda (média de 46,5 %), para a utilização de ^{15}N -nitrato e ^{15}N -amônio, ambos fornecidos como NA (Figura 4.8). A aplicação de ^{15}N -nitrato, comparado com ^{15}N -amônio, resultou em menor recuperação do N-fertilizante no solo. Provavelmente o nitrato foi arrastado por profundidades maiores, não sendo quantificado no balanço realizado no presente estudo que analisou apenas as camadas de solo até 40 cm de profundidade. A análise do solo até 1m de profundidade certamente aumentaria a recuperação do ^{15}N , contudo não se pode desconsiderar que perdas de nitrato por lixiviação tenham ocorrido, embora não quantificadas no presente estudo. Alguns trabalhos realizados no Brasil e nas Ilhas Maurício sugerem baixas perdas de N por meio de lixiviação do nitrato na cultura da cana-de-açúcar (NG KEE KWONG; DEVILLE 1984; OLIVEIRA et al., 2002; TRIVELIN et al. 2002). Ghiberto et al. (2011) estudando a lixiviação no N no ciclo de cana-planta em Latossolo Vermelho no Brasil encontraram perdas por lixiviação de $1,1 \text{ kg ha}^{-1}$ onde apenas $0,054 \text{ kg ha}^{-1}$ eram derivados da aplicação de ureia aplicada na dose 120 kg ha^{-1} . O elevado intemperismo e a formação de cargas positivas no perfil de alguns solos tropicais podem ajudar a explicar as baixas perdas de N por lixiviação, diferentemente do que ocorre em solos da Austrália, por exemplo, que apresentam o lençol freático raso (ROBINSON et al., 2011).

Figura 4.8 - Balanço de nitrogênio (N) no sistema solo-planta com o fornecimento de ^{15}N -nitrato e ^{15}N -amônio, ambos aplicados na forma de nitrato de amônio, no cultivo da quarta soqueira da cana-de-açúcar. Letra distinta após o valor percentual indica diferença na recuperação entre as formas de ^{15}N aplicadas, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,10$).

4.3.4 Crescimento, produção de biomassa seca e acúmulo de macronutrientes em condições controladas de casa-de-vegetação

A altura da 1ª folha com aurícula visível (F+1 ou folha TVD) e o diâmetro médio do colmo não foram influenciados pela marcação em ^{15}N das formas de N ($P \leq 0,05$), como já era esperado, visto que ambas as formas foram fornecidas conjuntamente com a fonte nitrato de amônio, havendo apenas diferenças na marcação isotópica do N, no ^{15}N -nitrato ou no ^{15}N -amônio (Tabela 4.3). Também não houve influência do tempo em dias após a aplicação dos fertilizantes (DAAF) no diâmetro médio do colmo, que apresentou média de 15,1 cm no período de 15 dias (Tabela 4.3). A única influência dos tratamentos ocorreu para a altura da F+1 em função dos DAAF, sendo que tal variável aumentou de 62,1 no dia 1 para 73,4 cm no 15º dia (Tabela 4.3). Isto indicou a elevada taxa de crescimento das plantas, que aumentaram 11,3 cm de altura em apenas 15 dias.

Tabela 4.3 – Altura da folha +1 (F+1) (cm) e diâmetro médio dos colmos (mm) de plantas coletadas 1, 3, 7 e 15 dias após a aplicação do fertilizante marcado em ^{15}N (DAAF)

DAAF	Altura F+1 (cm)			Diâmetro do colmo (mm)		
	$^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$	$\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$	$^{15}\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$	$^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$	$\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$	$^{15}\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$
1	61,8	62,5	62,1 c	14,85	14,48	14,66
3	64,2	66,8	65,5 bc	14,87	15,44	15,16
7	65,1	69,7	67,4 b	15,37	14,81	15,09
15	72,7	74,2	73,4 a	14,91	16,08	15,50
Média	65,9	68,3	67,1	15,00	15,20	15,10
Pr>F bloco			<0,000			0,1532
Pr>F forma de $^{15}\text{N}^1$			0,1872			0,7589
Pr>F DAAF			0,0013			0,8983
Pr>F forma x DAAF			0,8681			0,7966
CV(%)			7,29			13,72

[#] Média dos fertilizantes marcados no amônio e no nitrato. ¹ Formas de ^{15}N inclui o $^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$ e o $\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$. Médias minúsculas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste t (LSD) ($P \leq 0,05$). CV: coeficiente de variação (%).

A análise de variância (ANOVA) revelou que não houve interação significativa ($P \leq 0,05$) entre a forma com marcação de ^{15}N (^{15}N -amônio ou ^{15}N -nitrato) e tempo em DAAF nas variáveis: produção de biomassa seca e acúmulo de N das plantas. Além disso, tais variáveis também não foram influenciadas pelas formas com marcação de ^{15}N , com exceção para as folhas expandidas (FE) (Tabela 4.4). Neste caso, as FE de plantas nutridas com ^{15}N -amônio apresentaram maior produção de biomassa seca e acúmulo de N (38,6 g planta⁻¹ e 635,1 mg planta⁻¹, na média dos 4 períodos avaliados, respectivamente) comparado às plantas nutridas com ^{15}N -nitrato (35,1 g planta⁻¹ de biomassa seca e 572,4 mg planta⁻¹ de N acumulado, na média dos 4 períodos avaliados) (Tabela 4.5). Não há explicação plausível para tal acontecimento, uma vez que independente da marcação do fertilizante em ^{15}N , ambas as formas minerais de N foram fornecidas a todas as plantas. Mesmo que a planta absorvesse somente o amônio (^{15}N -amônio ou ^{14}N -amônio nas plantas que receberam ^{15}N -nitrato), a quantidade de ^{15}N não seria suficiente para alterar a massa das plantas. Provavelmente esta diferença foi oriunda da heterogeneidade das mudas, mas isto não deve influenciar nos resultados de eficiência de uso do ^{15}N -nitrato

Tabela 4.4 – Análise de variância mostrando o valor de P (Pr>F) para cada fonte de variação do experimento nas variáveis produção de biomassa seca e acúmulo de N em cada compartimento da planta, em experimento em condições controladas de casa-de-vegetação

Pr>F	Compartimento da planta						
	Colmo	FNE	FE	FS	PA	Raiz	Total [#]
Produção de biomassa seca (g planta⁻¹)							
Pr>F bloco	<0,0001	0,0769	0,0051	0,7062	<0,0001	0,0062	<0,0001
Pr>F forma de ¹⁵ N ¹	0,5460	0,1678	0,0470	0,1663	0,3462	0,0663	0,2035
Pr>F DAAF ²	0,0017	0,2291	<0,0001	0,6785	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Pr>F forma x DAAF	0,8844	0,7382	0,6993	0,4284	0,9115	0,6767	0,8343
CV(%)	23,41	22,41	12,54	30,37	12,65	10,87	10,89
Acúmulo de N (mg planta⁻¹)							
Pr>F bloco	<0,0001	0,2365	0,13980	0,6703	<0,0001	0,0018	<0,0001
Pr>F forma de ¹⁵ N ¹	0,3962	0,2885	0,0198	0,2801	0,3081	0,6047	0,5081
Pr>F DAAF ²	0,0005	0,8111	<0,0001	0,5109	<0,0001	0,0045	<0,0001
Pr>F forma x DAAF	0,9296	0,2365	0,5611	0,6170	0,9368	0,2308	0,9009
CV(%)	17,64	20,82	11,64	48,79	11,18	13,64	9,94

FNE: folha não expandida; FE: folha expandida; FS: folha seca; PA: parte aérea. [#] Planta inteira.

¹ Formas de ¹⁵N inclui o ¹⁵NH₄NO₃ e o NH₄¹⁵NO₃. ² DAAF: dias após a aplicação do fertilizante marcado em ¹⁵N. CV (%): coeficiente de variação.

Tabela 4.5 – Produção de biomassa seca e acúmulo de nitrogênio (N) nas folhas expandidas (FE) de plantas de cana-de-açúcar colhidas 1, 3, 7 e 15 dias após a aplicação do fertilizante (DAAF) marcado em ¹⁵N, em experimento em condições controladas de casa-de-vegetação

DAAF	Biomassa seca FE (g planta ⁻¹)			Acúmulo de N FE (mg planta ⁻¹)		
	¹⁵ NH ₄ NO ₃	NH ₄ ¹⁵ NO ₃	¹⁵ NH ₄ ¹⁵ NO ₃ [#]	¹⁵ NH ₄ NO ₃	NH ₄ ¹⁵ NO ₃	¹⁵ NH ₄ ¹⁵ NO ₃ [#]
1	28,9 c	28,0 c	28,5	485,3 c	483,1 c	484,2
3	34,9 bc	29,1 bc	32,0	585,3 bc	487,8 c	536,6
7	38,0 b	35,9 b	37,0	670,0 b	595,8 b	632,9
15	52,4 a	47,5 a	50,0	799,7 a	722,9 a	761,3
Média	38,6 A	35,1 B	36,9	635,1 A	572,4 B	603,8

[#] Média dos fertilizantes marcados no amônio e no nitrato. Médias minúsculas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste t (LSD) a 5% de probabilidade.

Ainda considerando as respostas na produção de biomassa seca e acúmulo de N nos compartimentos vegetais em função dos tratamentos, verificou-se que houve incremento significativo ($P \leq 0,05$) de ambas as variáveis no colmo, folhas expandidas, parte aérea, raízes e na planta-toda na maioria dos compartimentos

vegetais com o aumento nos DAAF (Tabela 4.5 e 4.6). No 1º dia após a aplicação das fontes-¹⁵N as plantas tinham uma produção de biomassa da planta inteira de 72,0 g; valor este que passou para 120,1 g aos 15 DAAF (crescimento de 167%). O acúmulo de N neste caso, aumentou de 1387,4 para 1965 mg de N (aumento de 142%). Ou seja, em apenas 14 dias as plantas absorveram cerca de 580 mg de N e acumularam 48,1 g de biomassa seca, indicando crescimento linear das plantas nesse período; o que facilitou o estudo de absorção de nitrato e amônio pelas plantas de cana-de-açúcar em condições controladas. As plantas de cana-de-açúcar apresentam o máximo de acúmulo de N antes do máximo acúmulo de biomassa (OLIVEIRA, 2011; LEITE et al., 2016), assim, se o experimento se estendesse por um período maior, provavelmente as plantas tenderiam a aumentar mais a absorção e acúmulo de N do que acúmulo de biomassa seca.

Tabela 4.6 – Produção de biomassa seca e acúmulo de nitrogênio (N) no colmo, folhas não expandidas (FNE), folhas secas (FS), parte aérea (PA), raízes e total (PA + raiz) de plantas de cana-de-açúcar colhidas 1, 3, 7 e 15 dias após a aplicação das fontes (DAAF) marcadas em ¹⁵N

DAAF	Compartimento vegetal							
	Colmo	FNE	FS	PA	Raiz	Total [#]		
Produção de biomassa seca (g planta⁻¹)								
1	14,1 b	9,0	4,7	56,2 c	15,8 d	72,0 c		
3	17,2 b	11,4	4,4	65,0 bc	18,6 c	83,6 b		
7	17,3 b	9,9	4,0	68,2 b	21,2 b	89,4 b		
15	23,6 a	10,6	4,8	89,0 a	31,1 a	120,1 a		
Média	18,1	10,2	4,5	69,6	21,7	73,0		
DMS	4,40	2,38	1,41	9,15	2,45	10,3		
Acúmulo de N (mg planta⁻¹)								
1	303,6 c	177,0	39,1	1003,9 c	383,5 b	1387,4 d		
3	372,3 bc	224,8	34,3	1168,0 b	419,0 b	1587,0 c		
7	405,8 b	209,7	29,3	1277,6 b	491,9 a	1769,5 b		
15	479,0 a	201,1	41,9	1483,2 a	482,7 a	1965,9 a		
Média	390,2	203,2	36,2	1232,3	444,3	1677,5		
DMS	71,58	43,98	18,34	143,39	63,02	173,29		

[#] Planta inteira. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste t (LSD) ($P \leq 0,05$). CV: coeficiente de variação (%); DMS: diferença mínima significativa.

A cana-de-açúcar apresenta o crescimento ajustado em modelo padrão não linear sigmoide, em que é possível identificar três fases de crescimento: inicial lento, caracterizada por apresentar crescimento lento e baixo acúmulo de biomassa; acelerado, onde há rápido crescimento e grande acúmulo de biomassa, chegando

quase ao valor máximo final; e uma fase de crescimento lento, caracterizada pelo elevado acúmulo de açúcar (GAVA et al., 2001; OLIVEIRA, 2011; LEITE et al., 2016). Leite et al., 2016 avaliaram o padrão de crescimento e acúmulo de nutrientes em três soqueiras de cana-de-açúcar em lugares distintos e relataram que a 1ª fase foi de 0 a 130 dias após o corte (DAC) ou de 0 a 1450°C GDDs (graus dias crescentes), em que as plantas acumularam apenas 10% do total de biomassa; e a 2ª fase foi de 135 a 270 DAC (1450 e 2800°C GDDs), em que as plantas acumularam 65 % do total de biomassa. Embora o desenvolvimento de cana-planta seja mais lento e demore mais tempo que o de cana-soca, o padrão de crescimento será o mesmo. Assim, provavelmente, as plantas deste experimento se encontravam na fase 2 do modelo sigmoide de crescimento.

O principal intuito de se conhecer a resposta das plantas em produção de biomassa seca e acúmulo de N em função dos tratamentos empregados neste estudo é garantir que as plantas apresentassem homogeneidade de crescimento e se encontrassem em fase linear de acúmulo de biomassa e nutrientes, a fim que as respostas na eficiência de uso do ^{15}N fornecido como nitrato ou amônio pudessem ser analisadas em diferentes tempos.

4.3.5 Aproveitamento do ^{15}N -amônio e ^{15}N -nitrato pela cana-de-açúcar em condições controladas

Muitos estudos sobre nutrição nitrogenada dão ênfase às fontes inorgânicas de N, motivados principalmente pelo papel proeminente dessas formas minerais em solos aráveis e pela dependência da maioria das espécies de plantas cultivadas por essas formas de N, além também da grande quantidade de fertilizantes minerais disponíveis para uso agrícola (NÄSHOLM; KIELLAND; GANETEG, 2009). O nosso estudo desenvolvido em condições controladas objetivou analisar a eficiência de uso das formas nítricas e amoniacais na nutrição da cana-de-açúcar, independente de outros fatores. Isto porque os resultados do estudo desenvolvido em campo indicaram que não houve diferenças na eficiência de uso do ^{15}N -amônio e ^{15}N -nitrato fornecidas pela adubação à cana-de-açúcar. Contudo, estas formas de N estavam susceptíveis aos inúmeros processos do ciclo do N no solo, como nitrificação, imobilização, perdas e a presença de outras formas de N, como as orgânicas. Desta forma, isolando todos estes fatores, o interesse foi avaliar a eficiência de uso do ^{15}N -

nitrito e ^{15}N -amônio pela cana-de-açúcar em diferentes tempos após o fornecimento do N as plantas em meio hidropônico, pois se esperava maior eficiência inicial do ^{15}N -amônio, com base nos resultados encontrados por Robinson et al. (2011) e Köll (2016), contudo, com o passar do tempo a EUN-F pelas plantas poderia ser alterada.

Os resultados mostraram que houve interação significativa das formas de ^{15}N e do tempo em DAAF nos valores de quantidade de Nitrogênio na Planta Proveniente do Fertilizante (NPPF) expressos em mg planta^{-1} , em todos os compartimentos vegetais e na planta toda (parte aérea + raiz) (Figura 4.9). Nos compartimentos colmo, folha não expandida, folha expandida e, conseqüentemente, na parte aérea, as plantas incorporaram significativamente menos ^{15}N -nitrito que ^{15}N -amônio nos quatro tempos avaliados (Figura 4.9 A a D). Contudo, a diferença na incorporação do ^{15}N -amônio na parte aérea ($32,1 \text{ mg planta}^{-1}$) que foi 4,6 vezes maior comparado ao ^{15}N -nitrito ($7,0 \text{ mg planta}^{-1}$) no 1º dia, diminuiu para 1,2 vezes no 15º DAAF ($218,3 \text{ mg planta}^{-1}$ para ^{15}N -amônio e $164,3 \text{ mg planta}^{-1}$ para ^{15}N -nitrito). Por outro lado, a quantidade de NPPF (mg planta^{-1}) nas raízes e parte aérea foram maiores para o ^{15}N -amônio comparado ao ^{15}N -nitrito apenas até o 3º tempo (7 DAAF) e a diferença na incorporação do ^{15}N que era 2,3 e 2,9 vezes maior para o ^{15}N -amônio na raiz e na planta-inteira no 1º DAAF, respectivamente, caiu para 0,5 e 0,9 vezes no 15º dia. Ou seja, depois de 15 dias a quantidade de NPPF foi maior nas raízes e planta inteira para a fonte ^{15}N -nitrito (188 e $352 \text{ mg planta}^{-1}$, respectivamente) comparada à fonte ^{15}N -amônio (93 e $311 \text{ mg planta}^{-1}$, respectivamente) (Figura 4.9 E, F).

A EUN-F, ou porcentagem de recuperação do N-fertilizante no colmo, folhas não expandidas (FNE), folhas expandidas (FE), raízes, parte aérea (PA) e na planta-inteira, também sofreram interação significativa ($P \leq 0,05$) das formas de ^{15}N (^{15}N -amônio e ^{15}N -nitrito) e DAAF (1, 3, 7 e 15) (Figura 4.10). Considerando-se os tempos em DAAF verifica-se que a EUN-F do ^{15}N -amônio nos colmos, folhas expandidas e parte aérea aumentaram linearmente com o tempo ($1 < 3 < 7 < 15$ DAAF) (Figura 4.10 A, C e D), enquanto nas raízes aumentou até o 7º dia, mas diminuiu no 15º dia, para valores próximos ao encontrado no 3º dia ($1 < 3 < 7 > 15 = 3$ DAAF). (Figura 4.10 E). Essa diminuição provavelmente ocorreu devido ao transporte de N para a parte aérea das plantas. Nas folhas não expandidas e na

Figura 4.9 – Nitrogênio na planta proveniente do fertilizante (NPPF) em mg por planta, no colmo (A), folha não expandida – FNE (B), folha expandida – FE (C), parte aérea - PA (D), raiz (E) e na planta inteira (F), em função do fornecimento de formas de ¹⁵N com marcação no ¹⁵N-amônio (barra preta) ou ¹⁵N-nitrato (barra cinza) e dos dias após a aplicação do fertilizante marcado em ¹⁵N (DAAF). Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as formas de N enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferenças dos DAAF dentro de cada forma de N, ambas pelo teste t (LSD) a 5% de probabilidade.

planta inteira a EUN-F do ^{15}N -amônio aumentou até o 7º dia e se manteve estável no 15º dia (Figura 4.10 B, F) ($1 < 3 < 7 = 15$ DAAF). Por outro lado, a EUN-F do ^{15}N -nitrato na parte aérea, raízes e planta inteira foram iguais nas duas primeiras avaliações, aumentando nas próximas ($1 = 3 < 7 < 15$ DAAF) (Figura 4.10 D, E, F).

Comparando o fator formas de ^{15}N dentro da interação formas de ^{15}N x DAAF verifica-se que no 1º, 3º e 7º DAAF a eficiência de uso do ^{15}N -amônio foi maior que a do ^{15}N -nitrato em todos os compartimentos vegetais (Figura 4.10). Somente aos 15 DAAF o ^{15}N -nitrato teve maior EUN que o ^{15}N -amônio nas raízes e na planta inteira (47,7 vs 23,6 % para as raízes e 89,4 vs 79,1 para a planta inteira) (Figura 4.10 E, F), enquanto na parte aérea, e em seus compartimentos, o ^{15}N -amônio continuou tendo maior EUN que o ^{15}N -nitrato. (55,4 vs 41,7 % na parte aérea) (Figura 4.10 D). Até os 7 DAAF o amônio foi “preferencialmente” absorvido pelas plantas, o que resultou em maior % de EUN-F em todos os compartimentos das plantas, assim como sugerido por Robinson et al. (2011). Contudo, à medida que o amônio foi se esgotando da solução nutritiva após aplicação do ^{15}N , a planta passou a absorver com grande rapidez o nitrato, sendo que 15 DAAF a % de EUN-F do ^{15}N -nitrato pela planta foi maior que a do ^{15}N -amônio, o que ocorreu principalmente devido à elevada absorção do nitrato pelo sistema radicular das plantas, mostrando que a planta também absorve e utiliza bem o nitrato, apesar desse processo ser retardado em relação ao amônio.

A absorção inicial do ^{15}N -amônio é rápida, como comprovada pela maior quantidade de NPPF (mg planta^{-1}) que é significativamente aumentada em todos os compartimentos vegetais do 1º ao 3º DAAF (Figura 4.9); o que invariavelmente não ocorre para o nitrato, que não tem incremento na incorporação em ^{15}N pela planta nesse intervalo. A incorporação de ^{15}N -nitrato só se tornou maior à medida que o ^{15}N -amônio foi se esgotando da solução nutritiva – período entre o 7º e o 15º dia (Figura 4.9). Isso porque a entrada do amônio nas raízes das plantas é muito rápida, mesmo em plantas que preferem nitrato (GERENDAS et al., 1997; BRITTO et al., 2001) e o custo energético da absorção e assimilação de amônio são muito menores do que a absorção e assimilação de nitrato (SALSAC et al., 1987). O nitrato é absorvido contra um potencial eletroquímico, necessitando ainda ser reduzido a amônio antes de ser incorporado em aminoácidos nas plantas; o que demanda um gasto consideravelmente maior de carbono fixado comparado com a nutrição amoniacal (BRITTO; KRONZUCKER, 2005), o que retarda sua absorção

Figura 4.10 – Eficiência de uso do N-fertilizante (EUN-F), em porcentagem, no colmo (A), folha não expandida – FNE (B), folha expandida – FE (C), parte aérea - PA (D), raiz (E) e na planta inteira (F), em função do fornecimento de formas de ^{15}N com marcação no ^{15}N -amônio (barra preta) ou ^{15}N -nitrato (barra cinza) e dos dias após a aplicação do fertilizante marcado em ^{15}N (DAAF). Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as formas de N enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferenças dos DAAF dentro de cada forma de N, ambas pelo teste t (LSD) a 5% de probabilidade.

comparado ao amônio. Além disso, a absorção de nitrato pelas raízes é rapidamente inibida por exposição ao amônio (KRONZUCKER; GLASS; SIDDIQI, 1999; ASLAM; TRAVIS; RAINS, 2001). Aslam et al. (1996) observaram que a expressão do sistema de transporte de nitrato de alta afinidade (HATS) poderia ser inibida pela absorção de amônio do solo, podendo inclusive ser regulada pela concentração de amônio no citoplasma.

A taxa de absorção radicular mais elevada para o ^{15}N -amônio conduz a ideia de que a economia de energia metabólica devido à nutrição amoniacal pode ter efeitos benéficos no crescimento da planta, mas isto é contrariado pela maior eficiência na utilização do ^{15}N -nitrato na planta-inteira no 15º DAAF e também a maior produção de biomassa seca em plantas nutridas exclusivamente com nitrato comparado a plantas alimentadas por amônio relatadas no capítulo 3 desta tese.

Robinson et al. (2011) avaliando o crescimento da cana-de-açúcar em solução nutritiva sob três doses de N (baixa, intermediária e alta) relataram que o suprimento de altas doses de N (10 mM) promoveu incorporação 5 e de 4-10 vezes menores para o ^{15}N -nitrato, comparado ao ^{15}N -amônio, nas raízes e parte aérea das plantas, respectivamente. Os autores avaliaram a recuperação do ^{15}N pelas plantas 24 horas após a aplicação dos fertilizantes enriquecidos em ^{15}N e sugeriram com base em outros estudos desenvolvidos no mesmo trabalho, que o nitrato não é adquirido tão eficientemente quanto o amônio pela cana-de-açúcar. Isto pode ser contestado com base nos resultados de EUN-F encontrados 15 dias após a aplicação dos fertilizantes no presente estudo. Além disso, os resultados obtidos no capítulo 3 desta tese também mostram que o melhor desenvolvimento das plantas ocorreu com o uso exclusivo de N-nitrato, enquanto o N-amônio não suportou eficientemente o crescimento da cana.

A afirmação de que a cana-de-açúcar apresenta preferência de absorção pelo amônio levou muitas indústrias de fertilizantes no Brasil a venderem fontes amoniacais aos produtores com a promessa de melhorar a produção da cana-de-açúcar. Contudo, mesmo que a cana tenha 'preferência' por amônio há que serem consideradas as condições ambientais e climáticas, que influenciaram diretamente na dinâmica do N no solo. O presente estudo não encontrou aumento na EUN pela cana-de-açúcar em condições de campo com a fertilização de ^{15}N -amônio via adubação, comparado ao ^{15}N -nitrato. Britto e Kronzucker et al. (2013) em um ponto

de vista sobre a significância ecológica e complexidade da preferência de fontes de N em plantas afirmaram que “o conceito de fonte preferencial de N não pode ser facilmente definido, mas depende de uma ampla e dinâmica gama de fatores fisiológicos e ambientais que se sobrepõe ao mesmo tempo. Qualquer atribuição a um índice de preferência rígida é válida apenas para as combinações de condições sob as quais foi testada. Além disso, pode ser válida apenas para uma determinada variedade ou subespécie de planta ou estágio de desenvolvimento”.

4.4 Conclusões

A utilização da fonte amídica (ureia), além de proporcionar a menor eficiência de uso do N comparado ao nitrato de amônio, também aumenta a quantidade de N não recuperado no sistema solo-planta, dentre um dos motivos pelas perdas de N por volatilização da amônia.

Não há diferença na eficiência de uso do N pelas plantas de cana-de-açúcar ao se utilizar um fertilizante nítrico ou amoniacal na adubação nas condições de campo que o experimento foi desenvolvido. Embora o ^{15}N -nitrato tenha sido menos recuperado no solo a 0-40 cm de profundidade, comparado ao ^{15}N -amônio, não há diferença na quantidade de N não recuperado para estas formas de N. Desta forma, em condições de campo, o ^{15}N -amônio não foi preferencialmente recuperado pelas plantas e não aumentou a EUN.

A absorção inicial de ^{15}N -amônio pelas plantas é muito mais rápida que a absorção de ^{15}N -nitrato (2,3 vezes para a raiz e 4,6 vezes para a parte aérea), contudo à medida que a quantidade de ^{15}N -amônio disponível diminui, a planta aumenta a utilização da fonte nítrica (^{15}N -nitrato), indicando que a cana-de-açúcar pode aproveitar eficientemente bem estas duas formas de N, embora a absorção de amônio seja mais rápida.

Referências

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

ALVES, A.C.; OLIVEIRA, P.P.A.; HERLING, V.L.; TRIVELIN, P.C.O.; LUZ, P.H.C.; ALVES, T.C.; ROCHETTI, R.C.; BARIONI JUNIOR, W. New methods to quantify NH_3 volatilization from fertilized surface soil with urea. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, p. 133-140, 2011.

ANDREWS, M.; RAVEN, J.A.; LEA, P.J. Do plants need nitrate? The mechanisms by which nitrogen form affects plants. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 163, p. 174, 199, 2013.

ASLAM, M.; TRAVIS, R.T.; RAINS, D.W. Inhibition of net nitrate uptake by ammonium in Pima and acala cotton roots. **Crop Science**, Madison, v. 41, p. 1130-1136, 2001.

ASLAM, M.; TRAVIS, R.L.; RAINS, D.W.; HUFFAKER, R.C. Effect of ammonium on the regulation of nitrate and nitrite transport systems in roots of intact barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings. **Planta**, New York, v. 200, p. 58-63, 1996.

BARRIE, A.; PROSSER, S.J. Automated analysis of light-element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry. In: BOUTTON, T.W.; YAMASAKI, S. (Ed.) **Mass spectrometry of soils**. New York: Marcel Dekker, 1996, p. 1-46.

BLAKE, G.R.; HARTGE, K.H. Bulk density. In: KLUTE, A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2nd ed. Madison: ASA; SSSA, 1986. pt. 1: Physical and mineralogical methods, p. 363-376. (Agronomy Series, 9).

BLOOM, A.J. The increasing importance of distinguishing among plant nitrogen sources. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 25, p. 10-16, 2015.

BOUDSOCQ, S.; NIBOYET, A.; LATA, J.C.; RAYNAUD, X.; LOEUILLE, N.; MATHIEU, J.; BLOUIN, M.; ABBADIE, L.; BAROT, S. Plant preference for ammonium versus nitrate: A neglected determinant of ecosystem functioning? **The American Naturalist**, Chicago, v. 180, p.60-69, 2012.

BREMNER, J.M.; MULVANEY, R.L. Urease activity in soils. In: BURNS, R.G. (Ed.) **Soil Enzymes**. Londres, Academic Press, 1978. p.149-196.

BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 159, p. 567-584, 2002.

BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. Nitrogen acquisition, PEP carboxylase, and cellular pH homeostasis: new views on old paradigms. **Plant, Cell and Environment**, Oxon, v. 28, p. 1396-1409, 2005.

BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. Ecological significance and complexity of N-sources preference in plants. **Annals of Botany**, Oxford, v. 112, p. 957-963, 2013.

BRITTO, D.T.; SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M.; KRONZUCKER, H.J. Futile transmembrane NH_4^+ cycling: A cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants. **Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America**, Washington, v. 98, p. 4255-4258, 2001.

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

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

CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA. **Terceira geração de cultivares CTC**. Piracicaba, 2007. 19 p. (Boletim Técnico, 2).

DYNIA, J.F.; CAMARGO, O.A. Retenção de nitrato num solo de carga variável, influenciada por adubação fosfatada e calagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, p. 141-144, 1999.

DOURADO-NETO, D.; POWLSON, D.; ABU BAKAR, R.; BACCHI, O.O.S.; BASANTA, M.V.; CONG, P.T.; KEERTHISINGHE, G.; ISMAILI, M.; RAHMAN, S.M.; REICHARDT, K.; SAFWAT, M.S.A.; SANGAKKARA, R.; TIMM, C.; WANG, J.Y.; ZAGAL, E.; VAN KESSEL, C. Multiseason recoveries of organic and inorganic nitrogen-¹⁵ in tropical cropping systems. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 74, p. 139-152, 2010.

EBRAHIM, M.K.; ZINGSHEIM, O.; EL-SHOUBAGY, M.N.; MOORE, P.H.; KOMOR, E. Growth and sugar storage in sugarcane grown at temperatures below and above optimum. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 153, p. 593-602, 1998.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3 ed. Brasília: EMBRAPA Produção de informação; Rio de Janeiro: EMBRAPA Solos, 2013. 353 p.

ENGEL, C.M.R.R.; CHEN, C.; WALLANDER, R. Microbial immobilization of nitrogen-¹⁵ labeled ammonium and nitrate in an agricultural soil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 79, p. 595-602, 2015.

SPIRONELO, A.; COSTA, A.A.; LANDELL, M.G.A.; PEREIRA, J.C.V.N.A.; IGUE, T.; CAMARGO, A.P.; RAMOS, M.T.B. Adubação NK em três variedades de cana-de-açúcar em função de dois espaçamentos. **Bragantia**, Campinas, v. 46, p. 247-268, 1997.

FENILLI, T.A.B.; REICHARDT, K.; TRIVELIN, P.C.O.; FAVARIN, J.L. Volatilization of ammonia derived from fertilizer and its reabsorption by coffee plants. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 38, p. 1741-1751, 2007.

FORTES, C.; VITTI, A.C.; OTTO, R.; FERREIRA, D.A.; FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O. Contribution of nitrogen from sugarcane harvest residues and urea for crop nutrition. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 70, p. 313-320, 2013.

FRANCIS, D.D.; SCHEPERS, J.S.; VIGIL, M.F. Post-anthesis nitrogen loss from corn. **Agronomy Journal**, Madison, v.85, p. 659-663, 1993.

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

FRENEY, J.R. DENMEAD, O.T.; WOOD, A.W.; SAFFIGNA, P.G.; CHAPMAN, L.S.; HAM, G.J.; HURNEY, A.P.; STEWART, R.L. Factors controlling ammonia loss from trash covered sugarcane field fertilized with urea. **Fertilizer Research**, Dordrecht, v. 31, p. 341-349, 1992.

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

GERENDAS, J.; ZHU, Z.J.; BENDIXEN, R.; RATCLIFFE, R.G.; SATTELMACHER, B. Physiological and biochemical processes related to ammonium toxicity in higher plants. **Zeitschrift fur Pflanzernahrung und Bodenkunde**, Weinheim, v. 160, p. 239-251, 1997.

GHIBERTO, P.J.; LIBARDI, P.L.; BRITO, A.S.; TRIVELIN, P.C.O. Nitrogen fertilizer leaching in an Oxisol cultivated with sugarcane. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 68, p. 86-93, 2011.

GLASS, A.D.M. Nitrate uptake by plant roots. **Botany-Botanique**, Ottawa, v. 87, p. 659-667, 2009.

HAJARI, E.; SNYMAN, S.J.; WATT, M.P. Nitrogen use efficiency of sugarcane (*Saccharum* spp.) varieties under in vitro conditions with varied N supply. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 122, p. 21-29, 2015.

HAWKES, C.V.; WREN, I.F.; HERMAN, D.J.; FIRESTONE, M.K. Plant invasion alters nitrogen cycling by modifying the soil nitrifying community. **Ecology Letters**, Malden, v.8, p. 976-985, 2005.

HAYSOM, M.B.; CHAPMAN, L.S.; VALLIS, I. Recovery of nitrogen from ¹⁵N urea applied to a green cane trash blanket at Mackay. **Proceedings of Australian Society Sugar Cane Technologists**, Bundaberg, v. 16, p. 79-84, 1990.

HOAGLAND, D.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. California Agriculture Experimental Station, 1950. 347 p. (**Circular**, 347).

KÖLLN, O.T. **Eficiência de uso de nitrogênio pela cana-de-açúcar: diferenças genotípicas, preferência por amônio e emissão de N₂O**. 2016. 120 p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

KÖLLN, O.T.; FRANCO, H.C.J.; FERREIRA, D.A.; VARGAS, V.P.; CASTRO, S.A.Q.; CANTARELLA, H.; CALDANA, C.; TRIVELIN, P.C.O. Root extracts of *Brachiaria humidicola* and *Sacchaum spontaneum* to increase N use by sugarcane. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 73, p. 34-42, 2016.

KRONZUCKER, H.J.; GLASS, A.D.M.; SIDDIQI, M.Y. Inhibition of nitrate uptake by ammonium in Barley. Analysis of component fluxes. **Plant Physiology**, Rockville, v. 120, p. 283-291, 1999.

LARA CABEZAS, W.A.R.; TRIVELIN, P.C.O. Eficiência de um coletor semi-aberto estático na quantificação de N-NH₃ volatilizado da ureia aplicada ao solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 14, p. 345-352, 1990.

LATA, J.C.; GUILLAUME, K.; DEGRANGE, V.; ABBADIE, L.; LENS, R. Relationships between root density of the African grass *Hyparrhenia diplandra* and nitrification at the decimetric scale: an inhibition-stimulation balance hypothesis. **Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences**, London, v. 267, p. 595–600, 2000.

LEITE, J.M.; CIAMPITTI, I.A.; MARIANO, E.; VIEIRA-MEGDA, M.; TRIVELIN, P.C.O. Nutrient partitioning and stoichiometry in unburnt sugarcane ratoon at varying yield levels. **Frontiers in Plant Science**, Lausana, v. 7, artigo nº 466 [online], 2016.

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

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

MARIANO, E.; TRIVELIN, P.C.O.; VIEIRA, M.X.; LEITE, J.M.; OTTO, R.; FRANCO, H.C.J. Ammonia losses estimated by an open collector from urea applied to sugarcane straw. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, p. 411-419, 2012.

MARTHA JÚNIOR, G.B.; TRIVELIN, P.C.O.; CORSI, M. Absorção foliar pelo capim-Tanzânia da amônia volatilizada do ¹⁵N-ureia aplicado ao solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 103-108, 2009.

MATTSSON, M.; SCHJOERRING, J.K. Senescence-induced changes in apoplastic and bulk tissue ammonia concentrations of ryegrass leaves. **New Phytologist**, Oxford, v. 160, p. 489-499, 2003.

MEIER, E.A.; THORBURN, P.J.; WEGENER, M.K.; BASFORD, K.E. The availability of nitrogen from sugarcane trash on contrasting soils in the wet tropics of North Queensland. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Amsterdam, v. 75, p. 101-114, 2006.

MEYER, J.; SCHMANN, A.; WOOD, R.; NIXON, D.; VAN DEN BERG, M. Recent advances to nitrogen use efficiency of sugarcane in the South African sugar industry. **Proceedings International Society Sugar Cane Technology**, Veracruz, v. 26, p. 238-246, 2007.

MILLER, A.J.; CRAMER, M.D. Root nitrogen acquisition and assimilation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 274, p. 1-36, 2004.

MURPHY, D.V.; RECOUS, S.; STOCKDALE, E.A.; FILERY, I.R.P.; JENSEN, L.S.; HATCH, D.J.; GOULDING, K.W.T. Gross nitrogen fluxes in soil: Theory, measurement and application of N-15 pool dilution techniques. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 79, p. 69-118, 2003.

NÄSHOLM, T.; KIELLAND, K.; GANETEG, U. Uptake of organic nitrogen by plants. **New Phytologist**, Oxford, v. 182, p. 31-48, 2009.

NG KEE KWONG, K.F.; DEVILLE, J. Nitrogen leaching from soils cropped with sugarcane under the humid tropical climate of Mauritius, Indian-Ocean. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 13, p. 471-474, 1984.

NG KEE KWONG, K.F.; DEVILLE, J.; CAVALOT, P.C.; RIVIÉRE, V. Value of cane trash in nitrogen nutrition of sugarcane. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 102, p. 79-83, 1987.

OLIVEIRA, E.C.A. **Balanco nutricional da cana-de-açúcar relacionada à adubação nitrogenada**, 2011. 213 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

OLIVEIRA, M.W.; TRIVELIN, P.C.O.; BOARETTO, A.E.; MURAOKA, T.; MORTATTI, J. Leaching of nitrogen, potassium, calcium and magnesium in a Sandy soil cultivated with sugarcane. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 861-868, 2002.

OTTO, R.; TRIVELIN, P.C.O.; FRANCO, H.C.J.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C. Root system distribution of sugar cane as related to nitrogen fertilization, evaluated by two methods: monolith and probes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 601-611, 2009.

OTTO, R.; CASTRO, S.A.Q.; MARIANO, E.; CASTRO, S.G.Q.; FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O. Nitrogen Use Efficiency for Sugarcane-Biofuel Production: What Is Next? **Bioenergy Research**, New York, [online], p. 1-18, 2016.

OWEN, A.G.; JONES, D.L. Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition. **Soil Biology and Biochemistry**. Oxford, v.33, p. 651-657, 2001.

PRASERTSAK, P.; FRENEY, J.R.; DENMEAD, O.T.; SAFFIGNA, P.G.; PROVE, B.G.; REGHENZANI, J.R. Effects of fertilizer placement on nitrogen loss from sugarcane in tropical Queensland. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Amsterdam, v. 62, p. 229-239, 2002.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas Instituto Agrônômico, 2001. 285p.

RECOUS, S.; MACHET, J.M.; MARY, B. The partitioning of fertilizer-N between soil and crop: Comparison of ammonium and nitrate applications. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 144, p. 101-111, 1992.

RECOUS, S.; MARY, B.; FAURIE, G. Microbial immobilization of ammonium and nitrate in cultivated soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 22, p. 913-922, 1990.

REDDY, G.B.; REDDY, K.R. Fate of nitrogen-15 enriched ammonium nitrate applied to corn. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 57, p. 111-115, 1993.

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

RICE, C.W.; TIEDJE, J.M. Regulation of nitrate assimilation by ammonium in soils and in isolated soil microorganisms. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 21, p. 597-602, 1989.

ROBERTSON, F.A.; THORBURN, P.J. Decomposition of sugarcane harvest residue in different climatic zones. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 45, p. 1-11, 2007.

ROBINSON, N.; BRACKIN, R.; VINALL, K.; SOPER, F.; HOLST, J., GAMAGE, H.; PAUNGFUO-LONHIENNE, C.; RENNENBERG, H.; LAKSHMANAN, P.; SCHMIDT, S. Nitrate paradigm does not hold up for sugarcane. **Plos One**, São Francisco, v. 6, p. e19045, 2011.

ROCHESTER, I.J.; CONSTABLE, G.A.; MACLEOD, D.A. Preferential nitrate immobilization in alkaline soils. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 30, p. 737-749, 1992.

ROCHETTE, P.; ANGERS, D.A.; CHANTIGNY, M.H.; MACDONALD, J.D.; BISSONNETTE, N.; BERTRAND, N. Ammonia volatilization following surface application of urea to tilled and no-till soils: a laboratory comparison. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 103, p. 310-315, 2009.

SALSAC, L.; CHAILLOU, S.; MOROT-GAUDRY, J.F.; LESAIN, C.; JOLIVET, E. Nitrate and ammonium nutrition in plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 6, p. 805-812, 1987.

SCHJOERRING, J.K.; HUSTED, S.; MATTSSON, M. Physiological parameters controlling plant-atmosphere ammonia exchange. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 32, p. 491-498, 1998.

SCHONINGER, E. **Absorção foliar de amônia e produtividade do milho em função da época de aplicação de ureia em cobertura**, 2014. 94 p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

SHINDO, H.; NISHIO, T. Immobilization and remineralization of N following addition of wheat straw into soil: determination of gross N transformation rates by ¹⁵N-ammonium isotope dilution technique. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 37, p. 425-432, 2005.

SOIL SURVEY STAFF. **Keys to soil taxonomy**. 12th ed. Washington: USDA; Natural Resources Conservation Service. 2014. 372 p.

SOMMER, S.G.; FRIIS, E.; BACH, A.; SCHJØRRING, J.K. Ammonia volatilization from pig slurry applied with trail hoses or broad spread to winter wheat: Effects of crop developmental stage, microclimate, and leaf ammonia absorption. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 26, p. 1153-1160, 1997.

SONG, W.; MAKEEN, K.; WANG, D.; ZHANG, C.; YEHONG, X.; ZHAO, H.; TU, E.; ZHANG, Y.; SHEN, Q.; XU, G. Nitrate supply affects root growth differentially in two rice cultivars differing in nitrogen use efficiency. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 343, p. 357-368, 2011.

SUBBARAO, G.V.; WANG, H.Y.; ITO, O.; NAKAHARA, K.; BERRY, W.L. NH₄⁺ triggers the synthesis and release of biological nitrification inhibition compounds in *Brachiaria humidicola* roots. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 290, p. 245-257, 2007.

SUBBARAO, G.V.; SAHRAWAT, K.L.; NAKAHARA, K.; ISHIKAWA, T.; KISHII, M.; RAO, I.M.; HASH, C.T.; GEORGE, T.S.; SRINIVASA RAO, P.; NARDI, P.; BONNETT, D.; BERRY, W.; SUENAGA, K.; LATA, J.C. Biological nitrification inhibition – A novel strategy to regulate nitrification in agricultural systems. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 114, p. 249-302, 2012.

SUBBARAO, G.V.; NAKAHARA, K.; HURTADOB, M.P.; ONO, H.; MORETA, D.E.; SACEDO, A.F.; YOSHIHASHI, A.T.; ISHIKAWA, T.; ISHITANI, M.; OHNISHI-KAMEYAMA, M.; YOSHIDA, M.; RONDON, M.; RAO, I.M.; LASCANO, C.E.; BERRY, W.L.; ITO, O. Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 106, p. 17302-17307, 2009.

TERMAN, G.L. Volatilization losses of nitrogen as ammonia from surface-applied fertilizers, organic amendments, and crop residues. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 31, p. 189-223, 1979.

TRIVELIN, P.C.O.; OLIVEIRA, M.W.; VITTI, A.C.; GAVA, G.J.C.; BENDASSOLLI, J.A. Perdas do nitrogênio da ureia no sistema solo-planta em dois ciclos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 193-201, 2002.

TRIVELIN, P.C.O.; LARA CABEZAS, W.A.R.; VICTORIA, R.L.; REICHARDT, K. Evaluation of a ^{15}N plot design for estimating plant recovery of fertilizer nitrogen applied to sugar cane. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 51, p. 226-234, 1994.

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

URQUIAGA, S.; CRUZ, K.H.S.; BODDEY, R.M. Contribution of nitrogen fixation to sugar cane nitrogen-15 and nitrogen balance estimates. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 56, p. 105-114, 1992.

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

VINALL, K.; SCHMIDT, S.; BRACKIN, R.; LAKSHMANAN, P.; ROBINSON, N. Amino acids are a nitrogen source for sugarcane. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 39, p. 503-511, 2012.

VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; PENATTI, C.P.; FORTI, J.A. Recuperação do nitrogênio (^{15}N) do amônio e do nitrato aplicado ao solo pela cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Pesquisa e Desenvolvimento**, Rio de Janeiro, v. 2, p. 1524-1528, 2002.

VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; PENATTI, C.P.; BOLOGNA, I.R.; FARONI, C.E.; FRANCO, H.C.J. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada ao nitrogênio residual da adubação e do sistema radicular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, p. 249-256, 2007.

VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; CANTARELLA, H.; FRANCO, H.C.J.; FARONI, C.E.; OTTO, R.; TRIVELIN, M.O.; TOVAJAR, J.G. Mineralização da palhada e crescimento de raízes de cana-de-açúcar relacionados com a adubação nitrogenada de plantio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 2757-2762, 2008.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1 Adubação nitrogenada em soqueiras de cana-de-açúcar

As respostas da cana-de-açúcar à adubação nitrogenada parecem difíceis de ser previstas. Isso pode estar relacionado ao extenso ciclo de cultivo da cana-de-açúcar no campo (de 12 a 18 meses), além do complexo e dinâmico ciclo do N que disponibiliza este nutriente de maneira não previsível às culturas, uma vez que dependem de muitos fatores climáticos e ambientais, além das formas lábeis a mineralização, presentes no solo. Haja vista que nenhum método de solo (químicos ou microbiológicos) para prever o fornecimento de N pelo solo à cana-de-açúcar, e consequentemente, a necessidade nutricional de N pela cana-de-açúcar tem sido encontrado (MARIANO, 2015).

Antigamente, com o sistema de colheita da cana-queimada, as doses de N utilizadas não atendiam completamente a demanda nutricional da planta, o que resultava na diminuição da produtividade de colmos ao longo dos ciclos de soqueira. Com isso, a cultura respondia à adubação nitrogenada (ZAMBELLO JÚNIOR; AZEREDO, 1983; WEBER et al., 2001). Na implantação do sistema de colheita de cana-crua, maiores doses de N tiveram que ser utilizadas, logo no início, devido à imobilização do N pelos microrganismos do solo para decompor a palhada da cana-de-açúcar, que apresenta elevada relação C/N (VITTI et al., 2007). Contudo, atualmente, após cerca de 20 anos de implantação da colheita da cana-crua, ao que parece, há uma tendência de equilíbrio na decomposição da palha, e parte do N dos resíduos culturais e de outros resíduos incorporados ao solo como vinhaça, torta de filtro, cama de aviários, entre outros, estão sendo disponibilizado para a absorção pelas plantas. De acordo com modelagem realizada por Trivelin et al. (2013) após 40 anos de colheita da cana-de-açúcar sem queima, cerca de 40 kg ha⁻¹ de N serão fornecidos às plantas devido à ciclagem de nutrientes da palha. Dessa forma, muitos estudos realizados no Brasil não apresentaram incrementos em produtividade de colmos devido à utilização de fertilizantes nitrogenados no sistema com cana-crua. De acordo com um levantamento realizado por Otto e al. (2016), de 45 experimentos avaliando curvas de respostas da cultura ao N-fertilizante, apenas 24% dos locais (apenas 11 estudos) foram altamente responsivos ao N, ou seja, apresentaram incrementos na produtividade de colmos $\geq 25\%$ quando o N foi fornecido na dose

que proporcionou a máxima produtividade, em comparação com as parcelas não fertilizadas.

O histórico de manejo do local de cultivo também parece estar relacionado com as respostas ou ausências de resposta à adubação nitrogenada na cana-de-açúcar. A rotação do canavial com leguminosas forrageiras, a intensa utilização de resíduos orgânicos como vinhaça, torta de filtro, fertilizantes organominerais, entre outros, ao que parece, tendem a diminuir às respostas da cana-de-açúcar à utilização de N mineral (OTTO et al., 2016). Contudo, mesmo que a cultura não apresente incrementos na produtividade, os resultados do balanço parcial de nutrientes realizados neste estudo, mostram que há déficit nutricional muito grande quando não há reposição de nutrientes no solo. Para o N, por exemplo, com a manutenção da palha no solo cerca de 400 kg ha⁻¹ do nutriente foram exportados pelos colmos após o cultivo de cinco soqueiras da cana-de-açúcar em ambiente com LVAd não responsivo à adubação nitrogenada (local 1). Desta forma, é aconselhável no mínimo realizar uma adubação de reposição, visto que em longo prazo isto levaria a exaustão do N do solo, o que certamente impactaria negativamente no rendimento produtivo da cultura e nos custos para recuperação da fertilidade do solo. Esta reposição deveria fornecer pelo menos a quantidade exportada pela cultura. Considerando a manutenção da palha no sistema os resultados desse estudo mostram que esta quantidade é de aproximadamente 80 kg ha⁻¹ de N por ciclo de soqueira. É importante destacar que caso haja remoção de palha a quantidade de N exportada seria próxima a 150 kg ha⁻¹ por ciclo de soqueira.

Com relação ao manejo do N-fertilizante as fontes NA e NAC apresentaram melhores respostas no rendimento de colmos e de açúcar que a UR, quando aplicadas na mesma dose de N. Isto certamente está relacionado com as perdas que a UR sofre devido à volatilização de amônia que se intensifica quando a mesma é aplicada superficialmente sobre a palha da cana-de-açúcar. Apesar da dose de 150 kg ha⁻¹ de N aplicada na fonte NAC ter promovido maiores acúmulos de biomassa seca e de nutrientes pelas plantas, isto não aumentou a produtividade de colmos e de açúcar em comparação com o NA100 e NAC100, que se mostram os manejos mais vantajosos no local responsivo à adubação nitrogenada em soqueiras avaliadas por quatro anos.

5.2 'Preferência' da cana-de-açúcar pelo amônio

Os resultados do capítulo 4 deste estudo mostram que o amônio é absorvido mais rapidamente pela cana-de-açúcar em condições controladas, indicando que a cultura tem certa tolerância à utilização do amônio. Apesar disso, fica evidente que quando este cátion está presente em menores concentrações na solução nutritiva, o nitrato passa a ser absorvido rapidamente pelas plantas de cana-de-açúcar. Em condições tropicais de solos cultivados, o amônio será mais imobilizado pelos microrganismos do solo que o nitrato (ENGEL; CHEN; WALLANDER, 2015) e também sofrerá intensa e muitas vezes uma rápida nitrificação (MARIANO et al., 2015). Tudo isso faz com que o nitrato seja, nessas condições, a principal fonte de N disponível para a cana-de-açúcar. Desta forma, esta deverá ser a fonte mais utilizada pela cultura no campo, mesmo sendo o amônio a fonte absorvida mais rapidamente, ou a fonte 'preferencial' de N como colocado por alguns autores (ROBINSON et al., 2011). Apesar de alguns trabalhos sugerir a utilização de inibidores de nitrificação no cultivo da cana-de-açúcar para preservar o N como amônio no solo (KÖLLN et al. 2016) esta prática parece um tanto quanto inviável, visto que a eficácia desses produtos é assegurada apenas por alguns dias (SUBBARAO et al., 2012), sendo negativamente afetada por elevadas temperaturas, condições essas existentes nas regiões tropicais.

Referências

ENGEL, C.M.R.R.; CHEN, C.; WALLANDER, R. Microbial immobilization of nitrogen-15 labeled ammonium and nitrate in an agricultural soil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 79, p. 595-602, 2015.

KÖLLN, O.T.; FRANCO, H.C.J.; FERREIRA, D.A.; VARGAS, V.P.; CASTRO, S.A.Q.; CANTARELLA, H.; CALDANA, C.; TRIVELIN, P.C.O. Root extracts of *Brachiaria humidicola* and *Saccharum spontaneum* to increase N use by sugarcane. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 73, p. 34-42, 2016.

MARIANO, E. **Predição da necessidade de fertilizante nitrogenado pela cana-de-açúcar e reações do nitrogênio orgânico e mineral dissolvidos em palha e solo de canaviais**. 2015. 146 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

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

OTTO, R.; CASTRO, S.A.Q.; MARIANO, E.; CASTRO, S.G.Q.; FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O. Nitrogen Use Efficiency for Sugarcane-Biofuel Production: What Is Next? **Bioenergy Research**, New York, [online], p. 1-18, 2016.

ROBINSON, N.; BRACKIN, R.; VINALL, K.; SOPER, F.; HOLST, J.; GAMAGE, H.; PAUNGFOO-LONHIENNE, C.; RENNENBERG, H.; LAKSHMANAN, P.; SCHMIDT, S. Nitrate paradigm does not hold up for sugarcane. **Plos One**, São Francisco, v. 6, p. e19045, 2011.

SUBBARAO, G.V.; SAHRAWAT, K.L.; NAKAHARA, K.; ISHIKAWA, T.; KISHII, M.; RAO, I.M.; HASH, C.T.; GEORGE, T.S.; SRINIVASA RAO, P.; NARDI, P.; BONNETT, D.; BERRY, W.; SUENAGA, K.; LATA, J.C. Biological nitrification inhibition – A novel strategy to regulate nitrification in agricultural systems. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 114, p. 249-302, 2012.

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

VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; PENATTI, C.P.; BOLOGNA, I.R.; FARONI, C.E.; FRANCO, H.C.J. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada ao nitrogênio residual da adubação e do sistema radicular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, p. 249-256, 2007.

WEBER, H.; DAROS, E.; ZAMBON, J.L.C.; IDO, O.T.; BARELA, J.D. Recuperação da produtividade de soqueiras de cana de açúcar com adubação NPK. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 2, p. 73-77, 2001.

ZAMBELLO JÚNIOR, E.; AZEREDO, D.F. Adubação na Região Centro-Sul. In: ORLANDO FILHO, J.; (Ed.) **Nutrição e adubação da cana-de-açúcar no Brasil**. Piracicaba: IAA/PLANALSUCAR, SUPER, 1983. P. 287-313.

APÊNDICES

Apêndice A – Etapas da avaliação da produção de biomassa: separação da folha seca, ponteiro e colmo em 2 m de sulco (a); pesagem de todos os compartimentos colhidos nos 2 m (b); organização do material para moagem (c); moagem em picadora de cana (d); amostra moída sendo acondicionada em saquinho plástico (e); amostra pronta para ser armazenada em isopor até chegada ao laboratório para determinação da umidade (f).

Apêndice B – Colheita mecânica do 4º ciclo de soqueira da cana-de-açúcar e pesagem em caminhão contendo cédula de carga (a); visão geral da área experimental após a colheita (b); Coleta de palha residual após a colheita do 3º ciclo da soqueira: detalhe da delimitação da unidade amostral de 1m² (c); espessura da camada de palha (d); retirada da palha e acondicionamento em saco para pesagem (e); e área experimental após coleta da palha residual (f).

Apêndice C – Plantio, seleção e transplântio das mudas: corte de toletes de aproximadamente 3 cm de largura das 3 gemas centrais da cana-planta (a); acondicionamento dos toletes em bandejas plásticas (b); mudas no início da germinação (c); mudas prontas para o transplântio (d); seleção das mudas por tamanho e desenvolvimento do sistema radicular (e); fixação das mudas nos vasos de plástico com auxílio de isopor e espuma de poliuretano (f).

Apêndice D – Detalhes da aeração dos vasos: circulado em vermelho o terminal que permite o controle da vazão do ar comprimido, e destacado em amarelo a pedra porosa usada para diminuir o tamanho das bolhas de ar formadas e homogeneizar a aeração dos vasos (a); manômetro com filtro de ar e óleo (b); folhas com sintomas de deficiência de potássio (c); vista geral do experimento 20 dias após o transplântio - DAT (d); vasos com capacidade para 5,5 L utilizado até os 137 DAT (e); vasos com capacidade para 10 L utilizados dos 138 aos 161 DAT (f).

Apêndice E – Detalhes da instalação das microparcelas de ^{15}N : Recobrimento da microparcela para evitar a aplicação do fertilizante não marcado (a); Frasco contendo o fertilizante marcado (b); e aplicação do fertilizante marcado na microparcela (c) e instalação dos coletores de volatilização: Coletor aberto instalado em campo sobre o suporte metálico (d); Detalhe da espuma dentro do coletor (e).

Apêndice F – Vista geral dos experimentos (a e b); separação das plantas em raízes, folhas expandidas, folhas não expandidas e colmos (c); detalhe da separação do colmo e folha não expandida (d); e raízes sendo lavadas com solução de KCl 10 mM (e).

ANEXOS

ANEXO A – Histórico dos locais experimentais 1 e 2, com informações da aplicação de vinhaça e produtividade, cinco anos antes da reforma do canavial, quando foram implantados os experimentos

Ano	Safr	Variedade	Aplicação de vinhaça (m ³)	Produção (Mg/ha)
-----Local 1-----				
2004	3º Corte	SP87-365	#	115,0
2005	4º Corte	SP87-365	150	103,4
2006	5º Corte	SP87-365	100	76,0
2007	6º Corte	SP87-365	145	86,1
2008	7º Corte	SP87-365	0	73,6
2009	REFORMA*	SP91-1285	104	#
-----Local 2-----				
2005	4º Corte	RB85-5453	187	#
2006	5º Corte	RB85-5453	137	#
2007	7º Corte	RB85-5453	122	81,4
2008	8º Corte	RB85-5453	0	73,4
2009	REFORMA	CTC15	101	
2010			0	125,1

* cultivo de amendoim antes da reforma do canavial. # Informação não divulgada pela Usina Estiva.

ANEXO B – Manejo da adubação realizada pela Usina Estiva na reforma do canavial nos locais 1 e 2

Mês/Ano	Atividade	Aplicação	Produto	Dose	Unidade
----- Local 1 -----					
Nov/2008	Dessecação da SP87-365	Pulverização tratorizada	Tensor Plus + Round-up	0,3 + 3,75	L ha ⁻¹
Nov/2008	Calagem	A lança	Calcário dolomítico	2,0	Mg ha ⁻¹
Nov/2008	Adubação de base	Sulco de Plantio	Agrolmin®	260	L ha ⁻¹
Nov/2008	Adubação de base	Sulco de Plantio	Formulado 10-25-20	613	kg ha ⁻¹
#	Cultivo do amendoim				
Abr/2009	Adubação de base	Sulco de Plantio	Formulado 03-12-00	595	kg ha ⁻¹
Mai/2009	Aplicação de fertilizante organomineral	Entrelinha	Torta de filtro	10,5	Mg ha ⁻¹
Mai/2009	Aplicação de fertilizante organomineral	Entrelinha	Cinzas	4,5	Mg ha ⁻¹
Mai/2009	Adubação de base	Sulco de Plantio	Agrolmin®	173	L ha ⁻¹
----- Local 2 -----					
#	Dessecação da RB85-5453	Pulverização tratorizada	#	#	#
Fev/2009	Calagem	A lança	Calcário dolomítico	2,0	Mg ha ⁻¹
Fev/2009	Aplicação de fertilizante organomineral	Entrelinha	Torta de filtro	4,3	Mg ha ⁻¹
Fev/2009	Aplicação de fertilizante organomineral	Entrelinha	Cinzas	3,8	Mg ha ⁻¹
Fev/2009	Aplicação de fertilizante organomineral	Entrelinha	Rocha fosfática	0,4	Mg ha ⁻¹
Mar/2009	Adubação de base	Sulco de Plantio	Agrolmin®	241	L ha ⁻¹
Mar/2009	Adubação de base	Sulco de Plantio	Formulado 03-12-00	575	kg ha ⁻¹
Dez/2010	Adubação da 1ª soqueira	Entrelinha	Ajifer® L60	995	L ha ⁻¹
Dez/2010	Adubação da 1ª soqueira	Entrelinha	Agrolmin®	260	L ha ⁻¹

Informações não obtidas.

ANEXO C - Cronograma das atividades realizadas nos experimentos de campo testando fontes e doses de nitrogênio em soqueiras de cana-de-açúcar, nos locais 1 e 2, em LATOSSOLO VERMELHO AMARELO distrófico (LVAd), localizadas no município de Novo Horizonte, SP.

(continua)

Ano	Atividades	Local 1		Local 2	
		Data	Descrição	Data	Descrição
2010	Corte da cana-planta	21/08	Corte da cana-planta e início da rebrota da soqueira		
	Implantação do experimento	26/10	Adubação das parcelas com fontes (U, NA e NMG) e doses de N (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha ⁻¹)		
2011	Implantação do experimento			8/11	Adubação das parcelas com fontes (U, NA e NMG) e doses de N (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha ⁻¹)
	Avaliações	06/07	Avaliações de biometria		
		11/07	Coleta das canas para análise tecnológica		
		11/07	Colheita mecânica do experimento		
		16/09	Coleta da palha residual e estaqueamento da área		
		16/09	Coleta de solo para análise de fertilidade		
	Adubação	08/11	Reaplicação dos tratamentos		
2012	Correção do solo	17/11	Aplicação a lanço de calcário dolomítico	28/12	Aplicação a lanço de calcário dolomítico
	Avaliações	08/08	Avaliações de biometria	08/08	Avaliações de biometria
		09/08	Coleta das canas para análise tecnológica	09/08	Coleta das canas para análise tecnológica
		14/09	Colheita mecânica do experimento	13/09	Colheita mecânica do experimento
		10/10	Coleta da palha residual e estaqueamento da área	10/10	Coleta da palha residual e estaqueamento da área
		10/10	Coleta de solo para análise de fertilidade	10/10	Coleta de solo para análise de fertilidade
	Adubação	11/10	Reaplicação dos tratamentos	11/10	Reaplicação dos tratamentos

ANEXO C - Cronograma das atividades realizadas nos experimentos de campo testando fontes e doses de nitrogênio em soqueiras de cana-de-açúcar, nos locais 1 e 2, em LATOSSOLO VERMELHO AMARELO distrófico (LVAd), localizadas no município de Novo Horizonte, SP.

(continua)

Ano	Atividades	Local 1		Local 2	
		Data	Descrição	Data	Descrição
2013	Avaliações	15/07	Avaliações de biometria	16/07	Avaliações de biometria
		10/09	Coleta de colmos para análise tecnológica	10/09	Coleta de colmos para análise tecnológica
		11/09	Colheita mecânica do experimento	11/09	Colheita mecânica do experimento
		04/10	Coleta da palha residual e estaqueamento da área	04/10	Coleta da palha residual e estaqueamento da área
		28/10	Coleta de solo para análise de fertilidade	28/10	Coleta de solo para análise de fertilidade
	Adubação	15/11	Reaplicação dos tratamentos	15/11	Reaplicação dos tratamentos
				15/11	Instalação das microparcelsas de ¹⁵ N
2014	Experimento de volatilização			17/11	Implantação dos coletores
				17/11 a 17/12	Coleta de espumas
	Avaliações	28/07	Avaliações de biometria	14/03, 15/05 e 25/07	Avaliação das microparcelsas de ¹⁵ N
		28/07	Coleta de colmos para análise tecnológica	26/07	Avaliações de biometria
		29/07	Colheita mecânica do experimento	26/07	Coleta de colmos para análise tecnológica
		14/08	Coleta da palha residual e estaqueamento da área	29/07	Colheita mecânica do experimento
		14/08	Coleta de solo para análise de fertilidade	15/08	Coleta da palha residual e estaqueamento da área
				15/08	Coleta de solo para análise de fertilidade

ANEXO C - Cronograma das atividades realizadas nos experimentos de campo testando fontes e doses de nitrogênio em soqueiras de cana-de-açúcar, nos locais 1 e 2, em LATOSSOLO VERMELHO AMARELO distrófico (LVAd), localizadas no município de Novo Horizonte, SP.

(conclusão)

Ano	Atividades	Local 1		Local 2	
		Data	Descrição	Data	Descrição
2014	Correção do solo	01/09	Aplicação de calcário dolomítico e gesso a lanço em área total	01/09	Aplicação de calcário dolomítico e gesso a lanço em área total
	Adubação	18/10	Reaplicação dos tratamentos	18/10	Reaplicação dos tratamentos
2015	Avaliações	21/07	Avaliações de biometria	22/07	Avaliações de biometria
		21/07	Coleta de colmos para análise tecnológica	22/07	Coleta de colmos para análise tecnológica
		28/07	Colheita mecânica do experimento	29/07	Colheita mecânica do experimento
		16/09	Coleta da palha residual	16/09	Coleta da palha residual
		16/09	Coleta de solo para análise de fertilidade	16/09	Coleta de solo para análise de fertilidade

ANEXO D– Valores médios de produtividade de colmos para cada manejo do N-fertilizante e ciclo de soqueira da cana-de-açúcar (1ª a 5ª soqueira), cultivada em dois locais experimentais (local 1 e 2).

Manejo ¹	Produtividade de colmos (Mg ha ⁻¹)					
	1ª S	2ª S	3ª S	4ª S	5ª S	Média
Local 1						
CONTR0	91 ± 9	97 ± 4	105 ± 4	115 ± 5	96 ± 3	101 ± 1
NA100	83 ± 3	99 ± 3	110 ± 3	124 ± 3	98 ± 1	103 ± 1
UR100	85 ± 8	101 ± 4	113 ± 3	122 ± 4	94 ± 4	103 ± 1
NAC50	86 ± 1	101 ± 5	107 ± 6	116 ± 5	95 ± 2	101 ± 1
NAC100	83 ± 5	104 ± 2	110 ± 2	120 ± 6	97 ± 4	103 ± 1
NAC150	92 ± 8	102 ± 3	112 ± 3	124 ± 5	102 ± 5	106 ± 2
NAC200	86 ± 7	96 ± 2	109 ± 4	131 ± 4	101 ± 9	104 ± 2
Média	86 ± 2	100 ± 1	110 ± 1	122 ± 2	98 ± 2	103 ± 1
Local 2						
CONTR0	-	108 ± 5	95 ± 3	102 ± 8	83 ± 4	97 ± 1
NA100	-	113 ± 3	115 ± 2	122 ± 5	111 ± 3	115 ± 1
UR100	-	115 ± 5	109 ± 4	120 ± 2	106 ± 3	113 ± 1
NAC50	-	113 ± 4	110 ± 3	120 ± 5	98 ± 2	110 ± 1
NAC100	-	111 ± 1	108 ± 3	122 ± 4	108 ± 6	112 ± 1
NAC150	-	115 ± 9	124 ± 6	125 ± 7	118 ± 4	120 ± 2
NAC200	-	119 ± 5	110 ± 7	129 ± 4	106 ± 2	116 ± 1
Média	-	113 ± 2	110 ± 2	120 ± 2	105 ± 2	112 ± 2

¹ CONTR0 = controle; NA100: nitrato de amônio (100 kg ha⁻¹ de N); UR100: Ureia (100 kg ha⁻¹ de N); NAC50, NAC100, NAC150 e NAC200: Nitrato de amônio e cálcio (50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ de N).[#] o local 2 foi implantado apenas na 1ª soqueira e avaliado a partir da 2ª soqueira.

ANEXO E – Valores médios de produtividade de açúcar para cada manejo do N-fertilizante e ciclo de soqueira da cana-de-açúcar (1ª a 5ª soqueira), cultivada em dois locais experimentais (local 1 e 2).

Manejo ¹	Produtividade de açúcar (Mg ha ⁻¹)					
	1ª S	2ª S	3ª S	4ª S	5ª S	Média
Local 1						
CONTR0	14,0 ± 1,4	13,3 ± 0,5	17,2 ± 0,5	16,9 ± 0,8	14,7 ± 0,8	15,2 ± 0,2
NA100	12,0 ± 0,6	13,7 ± 0,2	18,7 ± 0,4	19,0 ± 0,6	13,8 ± 0,3	15,5 ± 0,1
UR100	12,6 ± 1,1	14,0 ± 0,4	18,4 ± 0,7	18,2 ± 1,1	13,9 ± 0,9	15,4 ± 0,2
NAC50	12,8 ± 0,5	13,8 ± 1,2	17,6 ± 1,2	17,6 ± 0,7	14,2 ± 0,4	15,2 ± 0,2
NAC100	12,7 ± 0,8	14,3 ± 0,3	18,1 ± 0,4	18,3 ± 0,8	14,6 ± 0,6	15,6 ± 0,1
NAC150	14,0 ± 1,4	14,2 ± 0,5	18,8 ± 0,5	19,0 ± 0,6	14,8 ± 0,9	16,2 ± 0,2
NAC200	12,6 ± 1,3	12,6 ± 0,4	17,9 ± 1,3	19,9 ± 0,4	14,5 ± 1,1	15,5 ± 0,3
Média	12,9 ± 0,4	13,7 ± 0,2	18,1 ± 0,3	18,4 ± 0,3	14,4 ± 0,3	15,5 ± 0,2
Local 2						
CONTR0	-	13,9 ± 0,5	14,8 ± 0,4	15,1 ± 1,2	11,3 ± 0,8	13,8 ± 0,2
NA100	-	14,8 ± 0,3	18,1 ± 0,5	18,1 ± 0,9	15,6 ± 0,4	16,6 ± 0,1
UR100	-	15,1 ± 0,6	16,4 ± 1,0	18,3 ± 0,4	15,1 ± 1,0	16,2 ± 0,2
NAC50	-	14,9 ± 0,5	16,1 ± 0,4	17,8 ± 0,7	14,4 ± 0,4	15,8 ± 0,1
NAC100	-	14,8 ± 0,2	17,2 ± 0,5	18,7 ± 1,0	16,3 ± 0,7	16,8 ± 0,2
NAC150	-	15,2 ± 1,0	18,0 ± 0,5	18,9 ± 1,3	17,4 ± 0,8	17,4 ± 0,2
NAC200	-	15,0 ± 0,6	16,5 ± 0,3	18,5 ± 0,9	14,3 ± 0,6	16,1 ± 0,1
Média	-	14,8 ± 0,2	16,7 ± 0,3	17,9 ± 0,4	14,9 ± 0,4	16,1 ± 0,2

¹ CONTR0 = controle; NA100: nitrato de amônio (100 kg ha⁻¹ de N); UR100: Ureia (100 kg ha⁻¹ de N); NAC50, NAC100, NAC150 e NAC200: Nitrato de amônio e cálcio (50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ de N).[#] o local 2 foi implantado apenas na 1ª soqueira e avaliado a partir da 2ª soqueira.

ANEXO F – Ensaio de volatilização em câmara fechada mostrando os resultados de perdas cumulativas de N-NH_3 (A) e perdas diárias do N-NH_3 (B), ambos expressos em porcentagem do N aplicado, para os tratamentos nitrato de amônio (NA), nitrato de amônio e cálcio (NAC) e ureia (UR), aplicados na quantidade de 1884 mg de N por coletor, de 12,5 cm de diâmetro, com 800 gramas de solo cada.