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

**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**

Michele Xavier Vieira Megda

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

**Piracicaba
2013**

Michele Xavier Vieira Megda
Engenheira Agrônoma

**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**
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
2013

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

Megda, Michele Xavier Vieira

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 / Michele Xavier Vieira Megda.- - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2013.

156 p: il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.

1. *Saccharum* spp 2. Técnica isotópica 3. Mineralização 4. Imobilização 5. Fontes de N 6. Doses de N 7. Cloreto de amônio 8. Clorofila 9. Redutase do nitrato I. Título

CDD 633.61
M496t

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

Aos meus amados pais,

Zilda Xavier Vieira e José Vieira, pelo amor incondicional, incomparável dedicação, incentivo e exemplos de fé e superação;

Ao meu irmão,

Alex Xavier Vieira, pelo carinho e exemplos de humildade e humanidade;

A todos os professores que passaram pela minha vida,

Por fazerem parte da minha formação pessoal.

OFEREÇO

Ao meu amado esposo **Marcio Mahmoud Megda**

Pelo amor paciente, incansável dedicação e companheirismo. À você, meu eterno amor e gratidão.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela vida, amor incondicional e permissão para a concretização de mais esta conquista.

Ao Professor Paulo Cesar Ocheuze Trivelin, pela amizade, confiança, orientação exemplar, ensinamentos e incentivo.

Aos professores Richard L. Mulvaney e Saeed A. Khan pela amizade, agradável convívio, incansável dedicação e valiosos conhecimentos transmitidos durante o estágio de pesquisa no exterior.

À ESALQ, pelo ensino de qualidade, oportunidades e apoio estrutural.

Ao Departamento de Ciência do Solo e Programa de Pós Graduação em Solos e Nutrição de Plantas pelo aperfeiçoamento e oportunidades oferecidas.

Ao CENA/USP, em especial aos professores e funcionários do Laboratório de Isótopos Estáveis, pelo suporte técnico, laboratorial e pessoal.

À FAPESP pela concessão da bolsa de doutorado no período de setembro de 2009 a julho de 2013.

Especialmente ao Eduardo Mariano, José Marcos Leite e Hugo Henrique Batagello pelos valiosos auxílios em campo, e incansável dedicação para que este projeto de pesquisa fosse concluído.

Ao Marcio Mahmoud Megda pelas contribuições científicas e valiosos auxílios em campo e em laboratório.

Aos colegas de pós-graduação: Eduardo Mariano, José Marcos Leite, Rafael Otto, Henrique C. J. Franco, Danilo Alves Ferreira, Evandro Luiz Schoninger, Oriel Tiago Kölln, Maria Stefânia, Lucas Peres Miachon, Hugo Abelardo González Villalba, Paulo Ricardo Casagrande Lazzarini e Beatriz Nastaro pela amizade e agradável convívio.

À minha querida e inseparável amiga Vilma Ferreira Lima pela amizade verdadeira, momentos de alegria e exemplos de superação.

Aos colegas de Pós-graduação: Adriana Guirado Artur, Magnus Dall'Igna Deon, Lucíola Ellen Calió, Diana Signor, Tiago Garcez, Fabiana Schmidt, Fabiano Daniel De Bona, Carla Elisa Bastos e Beatriz Nastaro pelo agradável convívio e amizade.

Ao CNPq e à Yara International ASA pelo financiamento parcial do projeto.

À Usina Iracema, pela concessão da área para a realização da pesquisa, assim como as equipes de campo, que foram fundamentais para a condução da pesquisa.

Aos colegas Carlos Eduardo Faroni e André César Vitti pelo auxílio técnico-científico para a realização deste projeto.

Ao Centro de Tecnologia Canavieira (CTC), especialmente ao José Anderson Forti, Claudimir Pedro Penatti e José Luiz Donzelli, pela parceria no projeto e apoio nas avaliações de campo.

Aos Funcionários e Professores do Departamento de Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ/USP pelos ensinamentos e formação acadêmica.

Aos meus queridos e inesquecíveis amigos Thais Zimbres e Marcio Arruda por ser minha família nos Estados Unidos, pela amizade verdadeira e por todos os momentos de alegria.

Aos colegas da Universidade de Illinois: Sarah Ronin Heald, Shelbi Henning, Su Kai e Rachel Atwell pela troca de experiências e agradável convívio.

Aos amigos de Urbana-Champaign/Illinois, nos EUA, por tornarem meu dia a dia mais prazeroso e especial: Mariana Alves, Eduardo Aranega, Lidia Rodella, Carlos Amorin, Mary e Micah Baird, Fernando e Lays Kuhnen, Cynthia Dela Cruz Freitas, Ana Medeiros, Leila Ghasempour e Ruth Krehbiele.

Aos amigos Emiliana Manesco, Welinton e Hudson Dias por nos acolher em sua casa durante os oito meses finais do curso de doutorado e pelo agradável convívio diário.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente participaram de mais essa etapa da minha vida.

MUITO OBRIGADA!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
1 INTRODUÇÃO.....	15
Referências.....	19
2 CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E NUTRICIONAIS DA CANA-DE-AÇÚCAR RELACIONADAS À ADUBAÇÃO COM FONTES E DOSES DE NITROGÊNIO.....	23
Resumo.....	23
Abstract.....	23
2.1 Introdução.....	24
2.2 Material e métodos.....	26
2.3 Resultados e discussão.....	36
2.4 Conclusões.....	53
Referências.....	54
3 CONTRIBUIÇÃO DO NITROGÊNIO DO FERTILIZANTE NO TOTAL EXTRAÍDO PELA CANA-DE-AÇÚCAR DURANTE O CICLO AGRÍCOLA DE PRIMEIRA REBROTA.....	65
Resumo.....	65
Abstract.....	65
3.1 Introdução.....	66
3.2 Material e métodos.....	68
3.3 Resultados e discussão.....	74
3.4 Conclusões.....	86
Referências.....	86
4 ÍON CLORETO COMO INIBIDOR DA NITRIFICAÇÃO.....	95
Resumo.....	95
Abstract.....	95
4.1 Introdução.....	96
4.2 Material e métodos.....	98
4.3 Resultados e discussão.....	100
4.4 Conclusões.....	113
Referências.....	113
5 TRANSFORMAÇÕES DO NITROGÊNIO NO SOLO RELACIONADAS A APLICAÇÃO DE FONTES MINERAIS NITROGENADAS E/OU INCORPORAÇÃO DE RESÍDUO CULTURAL DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	119
Resumo.....	119
Abstract.....	119
5.1 Introdução.....	120
5.2 Material e métodos.....	123
5.3 Resultados e discussão.....	133

5.4 Conclusões.....	146
Referências.....	146
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	155

RESUMO

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

A adição ao solo de resíduo vegetal de elevada relação C/N no sistema “cana crua”, afeta o equilíbrio entre os processos de entrada e saída do N no sistema solo-planta-atmosfera. Assim, a presença da palhada modifica o agrossistema fazendo-se necessários ajustes no manejo da fertilização nitrogenada. Nesse sentido, quatro estudos foram desenvolvidos com os seguintes objetivos: (i) Avaliar as características produtivas e nutricionais da cultura da cana-de-açúcar de modo a identificar a fonte e a dose de N de maior eficiência agrônômica; (ii) Quantificar a recuperação do N proveniente do fertilizante pela cana-de-açúcar; (iii) avaliar o potencial de inibição do íon cloreto na nitrificação no solo; (iv) avaliar as taxas de mineralização e imobilização do N-fertilizante e a sua interação com o N nativo do solo. Em campo, foi conduzido um experimento em Latossolo Vermelho distrófico com cana-de-açúcar. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com quatro repetições e nove tratamentos, com as fontes nitrogenadas: sulfato de amônio, YaraBela NitromagTM, nitrato de amônio e ureia na dose de 100 kg ha⁻¹ de N, cloreto de amônio, nas doses de N: 50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹, e controle. Foram instaladas microparcelas com aplicação das fontes marcadas no isótopo ¹⁵N na dose de 100 kg ha⁻¹ de N. Os fertilizantes nitrogenados foram aplicados manualmente, sobre a palhada. Posteriormente, amostras do solo coletadas previamente foram incubadas aerobiamente por um período de 21 dias. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições e os tratamentos constaram da combinação de sulfato de amônio ou cloreto de amônio, na dose de 100 mg kg⁻¹ de nitrogênio, com cloreto de potássio na dose de 100 ou 200 mg kg⁻¹ de cloro. Avaliou-se, também, doses de cloreto de amônio (50, 100 e 200 mg kg⁻¹ de N). As formas de N-mineral foram determinadas por meio de sistema de análise por injeção em fluxo. Amostras de solo foram, também, incubadas aerobiamente por um período de 20 semanas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com três repetições e seis tratamentos, constituindo-se um fatorial 3x2 (N-amídico, N-amoniaco ou sem N *versus* com ou sem resíduo de cana). As fontes nitrogenadas (enriquecidas com 2% em átomos de ¹⁵N) foram aplicadas superficialmente no solo na dose de 100 mg kg⁻¹ de N e o resíduo de cana-de-açúcar incorporado na dose de 5,2 g kg⁻¹. O fornecimento de doses de N na forma de cloreto de amônio resultou em decréscimo de produtividade de colmos e açúcar. As fontes nítrico/amoniaco promoveram maior atividade da enzima redutase do nitrato nas folhas da cana-de-açúcar, porém, não apresentaram influência no acúmulo total de N. O aproveitamento do N-fertilizante pela cana-de-açúcar foi da ordem de 60% nos estádios iniciais, reduzindo-se para aproximadamente 20% próximo à fase de maturação. O íon cloreto reduziu a concentração de nitrato no solo devido a ação do ânion na reação de nitrificação. A incorporação de resíduo de cana-de-açúcar ao solo promoveu maiores taxas de imobilização do N e a aplicação de sulfato de amônio resultou em maior mineralização do N nativo do solo comparado a ureia.

Palavras-chave: *Saccharum* spp; Técnica isotópica; Mineralização; Imobilização; Fontes de N; Doses de N; Cloreto de amônio; Clorofila; Redutase do nitrato

ABSTRACT

Transformations of N derived from fertilizer in soil and use efficiency by sugarcane grown in straw-covered soil

The addition of plant residue with high C/N ratio to the soil in a "green cane" system affects the balance of input/output processes of N in a soil-plant-atmosphere system. Thus, the presence of straw modifies the agroecosystem requiring adjustments in management of nitrogen fertilization. Accordingly, four studies were developed to: (i) evaluate the nutritional and productive characteristics of sugarcane crops to identify the source and N rates of greater agronomic efficiency; (ii) quantify the sugarcane N recovery from fertilizers; (iii) assess the potential inhibition of chloride ion in reaction to soil nitrification, (iv) evaluate mineralization and immobilization rates of fertilizer-N and their interaction with the native soil N. We conducted a field experiment on a Typic Hapludox with sugarcane, in the 2009/2010 harvest. The experimental design was a randomized block with four replications and nine treatments with nitrogen sources: ammonium sulfate, YaraBela NitromagTM, ammonium nitrate and urea at 100 kg N ha⁻¹, ammonium chloride at N doses: 50, 100, 150 and 200 kg ha⁻¹ and control. Microplots were installed with application of nitrogen sources labeled ¹⁵N at 100 kg N ha⁻¹. Nitrogen fertilizers were applied manually over straw. Subsequently, previously collected soil samples were incubated aerobically for 21 days. The experimental design was completely randomized with four replications and the treatments consisted of ammonium sulfate or ammonium chloride at 100 mg N kg⁻¹ with potassium chloride at a chlorine dose 100 or 200 mg kg⁻¹. We also evaluated doses of ammonium chloride (50, 100, and 200 mg N kg⁻¹). Forms of mineral-N were determined by Flow Injection Analysis (FIA) system. Soil samples were incubated aerobically for 20 weeks. The experimental design was completely randomized with three replications and six treatments, comprising a 3x2 factorial (amidic-N, ammonium-N or without N *versus* with or without cane residue). Nitrogen sources (enriched with 2 atom% ¹⁵N) were applied to the soil surface at a N dose of 100 mg kg⁻¹ and residue sugarcane incorporated at 5.2 g kg⁻¹. The N supply in ammonium chloride form resulted in decreased yield of sugar and stalks. Nitric-ammonium sources promoted higher activity of nitrate reductase in sugarcane leave; however, they did not affect total N accumulation. The sugarcane recovery of fertilizer-N was approximately 60% in early stages, dropping to about 20% near the maturity stage. The chloride ion reduced nitrate concentration in soil due to the anion action in the nitrification reaction. The sugarcane residue incorporation to the soil showed higher N immobilization rates and the use of ammonium sulfate resulted in higher N mineralization rates of native soil N compared to urea.

Keywords: *Saccharum* spp; Isotope technique; Mineralization; Immobilization; Nitrogen sources; Nitrogen doses; Ammonium chloride; Chlorophyll; Nitrate reductase

1 INTRODUÇÃO

Os primeiros esforços para se obter cultivares de cana-de-açúcar com maior potencial produtivo no Brasil teve início no século XX, por meio de programas de melhoramento genético, levando a um aumento na produtividade média de colmos no país de 47 Mg ha⁻¹ em 1975 para os atuais 70 Mg ha⁻¹ (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2012). Após mais de um século do início do melhoramento genético no Brasil, a cultura da cana-de-açúcar é hoje a que obteve maiores avanços em termos de planejamento agrícola, sendo a única que possui mapeamento dos ambientes de produção, levando-se em consideração fatores edafo-climáticos e genéticos. Acerca dessa perspectiva, as pesquisas atuais indicam que o aumento de produtividade dos canaviais ainda está muito aquém do potencial genético dos cultivares atualmente utilizados, que podem alcançar valores superiores a 300 Mg ha⁻¹ de colmos industrializáveis (ALBUQUERQUE; SILVA, 2008; WACLAWOVSKY et al., 2010).

Atualmente, o Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, representando 34,6% da produção mundial, liderando o “ranking” de produção e exportação de açúcar. Segundo dados publicados pela Companhia Nacional de Abastecimento, para a safra 2012/2013 estima-se que a área de cana-de-açúcar colhida será de 8,5 milhões de hectares, com produção de 596,6 milhões de toneladas, representando aumento de 6,5% em relação à safra 2011/2012. O Estado de São Paulo é o maior produtor nacional, com cerca de 4 milhões de hectares da área cultivada com cana-de-açúcar em todo o país, sendo responsável por 50% da produção nacional (CONAB, 2012).

O nitrogênio (N) é, sem dúvida, um dos principais fatores de produção responsáveis pelo aumento de produtividade, especialmente em solos de regiões tropicais onde sua disponibilidade é fator limitante para o desenvolvimento das culturas. De forma geral, esse nutriente encontra-se em apenas 1% da massa seca total da planta, mas sua deficiência causa a redução na síntese de clorofila, de aminoácidos essenciais e da energia necessária à produção de carboidratos e esqueletos carbônicos, refletindo diretamente no desenvolvimento e rendimento da cultura (EPSTEIN; BLOOM, 2006). Dessa forma, à medida que a população mundial e a demanda por alimentos, combustível e fibra continuam a aumentar, existe em paralelo a necessidade crescente por conhecimento sobre a dinâmica desse nutriente em ecossistemas agrícolas. Projeções realizadas pela FAO em 2008 indicaram que o uso de fertilizantes nitrogenados aumentará de duas a três vezes até a segunda metade deste século. Nesse sentido, a adoção de sistemas agrícolas com menor dependência de insumos externos,

especialmente dos fertilizantes nitrogenados, contribui para a sustentabilidade dos solos brasileiros.

As taxas de nitrogênio aplicadas na cultura da cana-de-açúcar no Brasil são relativamente baixas quando comparadas aos demais países produtores, utilizando apenas 1/3 da dose adotada em outros países. Dados publicados pela FAO (2008) indicaram que o consumo de N por meio da aplicação de fertilizantes minerais no Brasil para produção de etanol derivado da cana-de-açúcar foi de 910 mil toneladas em uma safra agrícola, contra 2,8 milhões de toneladas de N para o etanol derivado do milho nos EUA. Dessa forma, não restam dúvidas de que dentre os biocombustíveis produzidos na atualidade, o etanol derivado da cana é a alternativa mais limpa e viável para reduzir as emissões de gases do efeito estufa. Em contraposição, o Brasil tem se tornado cada vez mais dependente do insumo importado, sendo que atualmente o país importa 75% do total da demanda de N, o que coloca o Brasil no quarto lugar entre os países que mais importam matéria-prima para a produção de fertilizantes nitrogenados, perdendo apenas para a China, Índia e Estados Unidos (IPNI, 2012). Além do fator econômico, o uso do N na agricultura causa preocupações de caráter ambiental e ligados a saúde pública, já que menos de 40% do N-fertilizante aplicado é aproveitado pela cultura (RAUN; JOHNSON, 1999; TILMAN et al., 2002; THORBURN et al., 2005; KINGSTON et al., 2008; MEYER et al., 2007; FRANCO et al., 2008), estando grande parte desse nutriente sujeito a perdas para a atmosfera na forma de gás amônia (NH_3) e óxido nitroso (N_2O).

Países como a Austrália, por exemplo, tem um histórico de elevado uso de N na agroindústria da cana-de-açúcar, o que é comum em sistemas agrícolas de diversos outros países (THORBURN et al., 2003; ROBINSON et al., 2007). Segundo Thorburn et al. (2003), a dose média da aplicação de fertilizantes nitrogenados aumentou de 100 kg ha⁻¹ nos anos 60 para 200 kg ha⁻¹ no final dos anos 90. Entretanto, o aumento da produção de cana-de-açúcar não tem acompanhado o aumento das taxas de aplicação dos fertilizantes nitrogenados. Nos anos 60 a média era de 1,5 kg de N aplicado por tonelada de colmos produzidos, aumentando para próximo de 2,5 kg de N por tonelada de colmos por volta do ano 2000. O excesso nas aplicações de fertilizantes nitrogenados podem ter efeitos prejudiciais na rentabilidade econômica, queda na concentração de sacarose e qualidade do açúcar, podendo ainda, causar sérios impactos ambientais em áreas de expansão de cana-de-açúcar (THORBURN et al., 2004).

As médias nacionais indicam que o Brasil está entre os países mais eficientes em utilizar o N, possuindo relação N exportado na colheita de colmos e uso de N-fertilizante

igual a 0,6; enquanto países menos eficiente como a China e o Paquistão possuem razão de 0,1 e 0,2 respectivamente (ROBINSON et al., 2011). Segundo Wood et al. (2010), as taxas de aplicação de N-fertilizante na Austrália caíram na década passada de 200 para 160 kg ha⁻¹ de N, mas as aplicações de N estão aumentando em outros países, e as doses extremas variam de 400 a 750 kg ha⁻¹ de N em países como a Índia e a China (FAO, 2008).

É fato que para o modelo de agricultura capitalizada e de baixa aplicação de insumos que prevalece na atualidade, estratégias para racionalizar o uso de nitrogênio na agricultura são de suma importância, bem como o aumento da eficiência de utilização de N pelas plantas. No agrossistema da cana-de-açúcar, com a obrigatoriedade da colheita sem despalha a fogo (“cana crua”), sistema esse que deixa grande quantidade de resíduos vegetais na superfície do solo (10 a 20 Mg ha⁻¹), o manejo da adubação nitrogenada passa por adaptações, principalmente, devido às dificuldades encontradas na incorporação do fertilizante ao solo. Nesse contexto, independente da fonte de N utilizada, são raros os trabalhos em que a cana-de-açúcar, em uma safra agrícola, utilize mais de 40% do N-fertilizante aplicado (TRIVELIN et al., 1996, Franco et al., 2011). Essa baixa recuperação é atribuída, em parte, ao efeito residual do fertilizante no solo, às perdas do N do sistema solo-planta, especialmente, quando se aplicam superficialmente no solo fontes contendo ureia, também, em razão de sua elevada imobilização microbiana (COURTAILLAC et al., 1998).

Com a adição de material orgânico ao solo, no sistema de cana sem despalha a fogo, o equilíbrio entre a mineralização e imobilização do N é afetado (CASSMAN; MUNNS, 1980). Assim, a palhada de cana-de-açúcar, que possui elevada relação C/N, poderá acentuar a imobilização do N inorgânico disponível no solo para sustentar o crescimento da população de microrganismos, promovido pela abundância de carbono como fonte de energia. A metabolização do substrato reduz gradualmente a relação C/N, chegando a um ponto em que os microrganismos não necessitam do N inorgânico, ocorrendo dessa forma, uma mineralização líquida positiva e o consequente aumento na disponibilidade de N mineral no solo (CANTARELLA, 2007; MARIANO, 2010). Dessa forma, é fundamental estudos envolvendo novas fontes de nitrogênio, as quais possam aumentar a eficiência de utilização pela cultura de cana-de-açúcar do N-fertilizante aplicado. O cloreto de amônio (NH₄Cl), subproduto da produção do bicarbonato de sódio surge, portanto, como fonte alternativa de nitrogênio para a cultura da cana-de-açúcar, já que contém 25 e 65%, respectivamente, dos elementos nitrogênio e cloro. Resultados de pesquisas no exterior demonstraram boa eficiência do cloreto de amônio na produção de arroz (TISDALE et al., 1985; ASHRAF et al., 2005). No Brasil, Coelho et al. (2006) obtiveram maior eficiência agrônômica na cultura de

milho para o cloreto de amônio quando comparado à ureia e ao bicarbonato de amônio. Em contrapartida, Vieira et al. (2010), avaliaram a resposta da cana-de-açúcar a doses de cloreto de amônio em Latossolo Vermelho distrófico e, verificaram pequeno incremento na produtividade no primeiro ano de sua aplicação, seguido de queda na produção de colmos e açúcar no ano seguinte, quando foi avaliado o efeito residual dessa fonte. Esses resultados indicaram que outros estudos deveriam advir a fim de entender melhor a resposta da adubação nitrogenada com cloreto de amônio, não somente dentro de um ciclo, mas o efeito aditivo em ciclos consecutivos, uma vez que a cana-de-açúcar é uma cultura semi-perene.

Considerando que a matéria orgânica do solo é o principal reservatório de N para as plantas, o estudo e a quantificação do N orgânico do solo potencialmente mineralizável é de suma importância para o aumento da eficiência da adubação nitrogenada. Salcedo et al. (1985) avaliaram a mineralização de carbono e nitrogênio em Argissolo Vermelho Amarelo Latossólico álico, de textura arenosa, durante o ciclo de cana-planta, e obtiveram estimativas de $394 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de N mineralizado até a profundidade de 0,60 m. Segundo os autores, a necessidade da cana-de-açúcar poderia ser atendida somente pela mineralização do N orgânico desse solo. Franco et al. (2008) avaliaram a resposta a fertilização nitrogenada em áreas de cana-planta, e concluíram que o N do solo pode realmente satisfazer toda a exigência da cultura, tendo em vista que a mesma necessita de aproximadamente 140 kg de N para produzir 100 toneladas de colmos industrializáveis e a quantidade mineralizada, geralmente, é maior do que este valor. Em estudo de incubação aeróbia conduzido por Reddy et al. (2003) foi observado que as frações de nitrogênio orgânico hidrolisável, como N-aminoácido e N-aminoaçúcar, apresentaram coeficientes de correlação maiores que 0,95 com o nitrogênio mineralizado, indicando que essas frações podem ser fontes potenciais de nitrogênio mineral. Dessa forma, fica claro que estudos relacionados à quantificação das frações do nitrogênio do solo que contribuem para a nutrição mineral das plantas, bem como a forma e a dose de nitrogênio aplicada, são determinantes para o melhor entendimento dos processos relacionados à eficiência de uso do N de adubações pelas culturas.

Com base no conhecimento atual, as seguintes hipóteses são formuladas:

1. As fontes amoniacais (cloreto de amônio e sulfato de amônio) apresentarão maior eficiência agronômica no cultivo da cana-de-açúcar comparadas à fonte amídica (ureia).
2. O íon cloreto proveniente do cloreto de amônio, associado ao mesmo íon do cloreto de potássio, interferirá negativamente na eficiência agronômica dessa fonte nitrogenada, tendo em vista o acúmulo de sais na rizosfera da cana-de-açúcar.

3. A maior parte do nitrogênio absorvido pela cana-soca é proveniente da mineralização da matéria orgânica do solo e de resíduos culturais incorporados ao solo na reforma do canavial.
4. O íon cloreto, proveniente de fertilizantes clorados, é um potencial inibidor da reação de nitrificação no solo.
5. O resíduo de cana-de-açúcar (de elevada relação C/N) depositado no solo após a colheita da cultura promove aumento nas taxas de imobilização do N-fertilizante pela biomassa microbiana.

Com base nessas hipóteses e considerando-se que o manejo da adubação nitrogenada deve ser realizado no sentido de se obter eficiência de uso do nitrogênio, considerado os custos financeiros envolvidos, esse trabalho de tese teve como objetivos:

- a) Avaliar as características produtivas e nutricionais da cultura da cana-de-açúcar, colhida sem queima (“cana-crua”) de modo a estabelecer a fonte de N e a dose de cloreto de amônio de maior eficiência agronômica.
- b) Avaliar a contribuição do N proveniente do fertilizante (ureia, cloreto de amônio e sulfato de amônio) na quantidade total de nitrogênio acumulada pela cana-de-açúcar e a sua participação nos compartimentos da planta (colmos, folhas secas, ponteiros e raízes) durante o ciclo agrícola de primeira soqueira;
- c) Avaliar o potencial do íon cloreto como inibidor da nitrificação, em função da aplicação de cloreto de potássio e cloreto de amônio em Latossolo Vermelho distrófico.
- d) Avaliar em condições de laboratório (incubação aeróbia) as taxas de mineralização e imobilização do N-fertilizante e a sua interação com o N nativo do solo em função da aplicação de formas de N (amídico e amoniacal) e incorporação de resíduo de cana-de-açúcar.

Referências

- ALBUQUERQUE, A.C.S.; SILVA, A.S. **Agricultura tropical**: quatro anos décadas de inovação tecnológica, institucionais e políticas. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica, 2008. v. 1: Produção e produtividade agrícola, 1336 p.
- ASHRAF, M.Y.; ALVI, A.K.; SARWAR, G.; QURESHI, M.S.; ASHRAF, M.; HUSSAIN, M. Effect of ammonium chloride on the growth and nutrient uptake by cotton grown in alkaline soil. **Agrochimica**, Paquistão, v. 49, p. 153-164, 2005.
- CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C. Nitrogênio e enxofre na cultura da cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO SOBRE NITROGÊNIO E ENXOFRE NA AGRICULTURA BRASILEIRA, 2007, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: IPNI, 2007. p. 355-392.

CASSMAN, K.G.; MUNNS, D.N. Nitrogen mineralization as affected by soil moisture, temperature and depth. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 44, p. 1233-1237, 1980.

COELHO, A.M.; RIBEIRO, B.N.; RESENDE, F.A.; TEIXEIRA, Z.K. **Eficiência agrônômica do cloreto de amônio e do bicarbonato de amônio como fontes de nitrogênio para a cultura do milho**. Sete Lagoas, MG: Editoração eletrônica, 2006. 6 p. (Comunicado Técnico EMBRAPA, 136).

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, segundo levantamento, agosto/2012**. Brasília, 2012. 18 p.

COURTAILLAC, N.; BARAN, R.; OLIVER, R.; CASABIANCA, H.; GANRY, F. Efficiency of nitrogen fertilizer in sugarcane-vertical system in Guadeloupe according to growth and ratoon age of the cane. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**. Amsterdam, v. 52, p. 9-17, 1998.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2. ed. Londrina: Planta, 2006. 402 p.

FAO. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 19 jan. 2013.

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

FRANCO, H.C.J. **Eficiência agrônômica da adubação nitrogenada de cana-planta**. 2008. 127 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

FRANCO, H.C.J.; CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C.; OTTO, R.; FARONI, C.E.; SARTORI, R.H.; TRIVELIN, M.O. Acúmulo de nutrientes pela cana planta. **STAB. Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 26, p. 47-51, 2008.

IPNI. Disponível em: <<http://brasil.ipni.net/article/BRS-3132#aparente>>. Acesso em: 15 abr. 2013.

KINGSTON, G.; ANINK, M.C.; ALLEN, D. Acquisition of nitrogen by ratoon crops of sugarcane as influenced by waterlogging and split applications. **Proceedings of Australian Society Sugar Cane Technologists**, Queensland, v. 30, p. 202–211, 2008.

MARIANO, E. **Mineralização e disponibilidade de nitrogênio em solos cultivados com cana-de-açúcar**. 2010. 92 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

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.

RAUN, W.R.; JOHNSON, V.G. Improving nitrogen use efficiency for cereal production. **Agronomy Journal**, Madison, v. 91, p. 357–363, 1999.

REDDY, K.S.; SINGH, M. TRIPATHI, A.K.; SINGH, M.; SAHA, M.N. Changes in amount of organic and inorganic fractions of nitrogen in an Eutrochrept soil after long-term cropping with different fertilizer and organic manure inputs. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 166, p. 232-238, 2003.

ROBINSON, N.; BRACKIN, R.; VINALL, K.; SOPER, F.; HOLST, J. Nitrate paradigm does not hold up for sugarcane. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 6, p. 1-9, 2011.

ROBINSON, N.; FLETCHER, A.; WHAN, A.; CRITCHLEY, C.; VON WIRE 'N, N.; LAKSHMANAN, P.; SCHMIDT, S. Sugarcane genotypes differ in internal nitrogen use efficiency. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 34, p. 1122–1129, 2007.

SALCEDO, I.H.; SAMPAIO, E.V.S.B.; ALVES, G.D. Carbon and nitrogen mineralization in soil cultivated with sugar cane. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 9, p. 33-38, 1985.

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.; PARK, S.E.; BIGGS, I. M. Nitrogen fertiliser management in the Australian sugar industry: strategic opportunities for improved efficiency. In: CONFERENCE AUSTRALIAN SOCIETY SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 25., 2004, Brisbane. **Proceedings...** Brisbane : Watson Ferguson and Co, 2004. 1CD ROM.

Thorburn PJ, Park SE and Biggs IM (2003b). Nitrogen fertiliser management in the Australian sugar industry: strategic opportunities for improved efficiency. CONFERENCE AUSTRALIAN SOCIETY SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 25., 2003, Brisbane. **Proceedings...** Brisbane : Watson Ferguson and Co, 2003. 1CD ROM (CD ROM).

TILMAN, D.; CASSMAN, K.G.; MATSON, P.A.; NAYLOR, R.; POLASKY, S. Agricultural sustainability and intensive production practices. **Nature**, London, v. 418, p. 671–677, 2002.

TISDALE, S.L.; NELSON, W.L.; BEATON, J.D. Soil and fertilizer nitrogen. In: _____. **Soil fertility and fertilizer**. New York: Macmillan, 1985. p. 112-188.

TRIVELIN, P.C.O.; STEFANUTTI, R.; LIMA FILHO, O.F.; TZIBOY, E.A.T.; OLIVEIRA, J.A.; BENDASSOLLI, J.A. Volatilização de amônia do solo associada à aplicação superficial de solução nitrogenada com uréia e nitrato de amônio In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DO SOLO, 13., 1996. Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: SLACS, 1996. 1 CD-ROM.

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

VONG, P.C.; KABIBOU, I.; JACQUIN, F. Etudes des correlations entre biomasse microbienne et differentes fractions d'azote organique presentes dans deux sols lorrains. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 22, p. 385-392, 1990.

WACLAWOVSKY, A.J.; SATO, P.M.; LEMBKE, C.G.; MOORE, P.H.; SOUZA, G.M. Sugarcane for bioenergy production: an assessment of yield and regulation of sucrose content. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, v. 8, p. 263-276, 2010.

WOOD, A.W.; SCHROEDER, B.L.; DWYER, R. Opportunities for improving the efficiency of use of nitrogen fertiliser in the Australian sugar industry. In: CONFERENCE AUSTRALIAN SOCIETY SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 32., 2010, Brisbane. **Proceedings...** Brisbane : Watson Ferguson and Co, 2010. p. 221–233.'

2 CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E NUTRICIONAIS DA CANA-DE-AÇÚCAR RELACIONADAS À ADUBAÇÃO COM FONTES E DOSES DE NITROGÊNIO

Resumo

O nitrogênio é, sem dúvida, um dos principais fatores de produção responsáveis pelo aumento de produtividade, especialmente em solos de regiões tropicais onde sua disponibilidade é fator limitante para o desenvolvimento das culturas. Esse nutriente encontra-se, em média, em cerca de 1% da massa seca total das plantas, mas sua deficiência tem influência direta no desenvolvimento e rendimento da cultura. Assim posto, foi realizado experimento de campo, em Latossolo Vermelho Argiloso distrófico, com primeira soqueira de cana-de-açúcar (SP89-1115). O estudo teve como objetivo avaliar as características produtivas e nutricionais da cana-de-açúcar de modo a identificar a fonte e a dose de nitrogênio de maior eficiência agrônômica. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com quatro repetições e os tratamentos constaram de cinco fontes nitrogenadas: sulfato de amônio, YaraBela NitromagTM, nitrato de amônio, ureia na dose de 100 kg ha⁻¹ de N, e cloreto de amônio, nas doses de 50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ de N, além do controle (sem aplicação de N-mineral). Os valores SPAD obtidos com utilização do clorofilômetro N-TESTER são apropriados para predizer o estado nutricional em N da cana-de-açúcar, por terem relação direta com a concentração de clorofila *a* na folha. A atividade da enzima redutase do nitrato e a concentração de nitrato na folha aumentaram dos 90 aos 150 dias após a adubação, sendo as fontes amoniacais as que promoveram maior atividade da enzima, não apresentando, porém, relação direta com o acúmulo total de N e a produtividade de colmos. O cloreto de amônio como uma fonte alternativa de N poderá ser usado, eventualmente, na adubação de cana-de-açúcar, não sendo recomendado o uso repetido dessa fonte em um mesmo local. Altas doses de N como cloreto de amônio no cultivo de cana-de-açúcar resultam em decréscimo de produtividade de colmos e açúcar devido aos efeitos causados pelo excesso de cloreto tanto no solo como nas plantas.

Palavras-chave: *Saccharum* spp; Cloreto de amônio; Doses de N; Fontes de N; Redutase do nitrato; Valor SPAD; Clorofila

Abstract

Nitrogen is undoubtedly one of the key production factors responsible for increased productivity, especially in tropical regions where its availability is a limiting factor for crop development. This nutrient is, on average, about 1% of total dry mass of plants, but its deficiency has a direct influence on the development and crop yield. Thus, the field experiment was conducted in a Typic Hapludox with first ratoon sugarcane (SP89-1115). The study aimed to evaluate the nutritional and productive characteristics of sugarcane in order to identify the nitrogen source of higher agronomic efficiency. The experimental design was a randomized block with four replications and treatments consisted of five nitrogen sources: ammonium sulfate, YaraBela NitromagTM, ammonium nitrate, urea at the rate of 100 kg N ha⁻¹, and ammonium chloride at doses of 50, 100, 150 and 200 kg N ha⁻¹, and a control (without mineral-N application). The values obtained using the SPAD chlorophyll meter N-TESTER is suitable for predicting the nutritional status of sugarcane, because they have a direct relation

with chlorophyll concentration in leaf. The activity of nitrate reductase and nitrate concentration in leaf increased from 90 to 150 days after fertilization, and ammoniacal sources promoted highest activity and did not show, however, directly relation to the nitrogen total concentration and crop yield. Ammonium chloride as an alternative source of N can be used eventually in fertilization of sugarcane, not recommended repeated use in the same place. High doses of N as ammonium chloride in cultivation of sugarcane result in decreased stalks productivity and sugar due to the effects caused by excess of chloride in soil and plants.

Keywords: *Saccharum spp*; Ammonium chloride; N rates; N sources; Nitrate reductase; SPAD value; Chlorophyll

2.1 Introdução

A partir do ano de 1997, por força da legislação brasileira, a colheita de cana queimada no Estado de São Paulo passou a ser substituída gradualmente pela colheita de cana sem despalha a fogo (“cana-crua”). Atualmente, o avanço da colheita de cana sem o uso da queima prossegue em todos os estados produtores. Os últimos dados publicados pelo Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE, 2011) mostraram que na safra 2010/2011 no Estado de São Paulo, aproximadamente 56% da colheita foi realizada mecanicamente sem queima, levando-se em consideração o ritmo acelerado da adoção do sistema de colheita de cana-crua mecanizada, que em 2006/2007 era de 34%, acredita-se que em um período menor que cinco anos, 100% das áreas canavieiras serão colhidas sem queima. Segundo protocolo de cooperação firmado entre o governo do Estado de São Paulo e a União da Agroindústria Canavieira de São Paulo, os produtores deverão antecipar o prazo final para a eliminação das queimadas da palha de cana, de 2021 para 2014, e nos terrenos com declividade acima de 12%, de 2031 para 2017 (UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR - UNICA, 2012).

A manutenção da palha da cana-de-açúcar no solo, com a prática da colheita sem despalha a fogo, é fundamental para a cobertura do solo, melhorando atributos físicos, químicos e biológicos e, conseqüentemente, a fertilidade do solo, comparativamente ao sistema com queima; no entanto, a cobertura do solo com resíduos culturais é um fator que influencia de modo direto na eficiência de aproveitamento do nitrogênio (N) pelas culturas, em função, principalmente, das inúmeras transformações, especialmente de natureza biológica a que o nitrogênio está sujeito.

De acordo com a Organização das Nações Unidas (FAO, 2009) aproximadamente 50% do aumento da produtividade agrícola se deve ao emprego de fertilizantes minerais. No entanto, os fertilizantes agrícolas elevam em muito os custos de produção no setor agrícola,

em função principalmente da necessidade de importação de matérias-primas para a fabricação de fertilizantes minerais, tendo em vista que cerca de 75% do nitrogênio, 50% do fósforo e 95% do potássio são importados (ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS - ANDA, 2011). Considerando o papel preponderante do N na agricultura e os elevados custos de obtenção, o adequado suprimento e uso dos fertilizantes se tornam primordial para que o país possa se manter como o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e aumentar a oferta de etanol, tendo em vista a crescente demanda interna com o sucesso comercial dos veículos do tipo “Flex-Fuel”. Com a efetiva expansão da cana-de-açúcar e do milho no Brasil, estes últimos devido ao maior direcionamento de parte do produto americano para a produção de etanol, serão necessárias, seguramente, maiores quantidades de fertilizantes nitrogenados para garantir a produtividade e competitividade dos biocombustíveis.

As gramíneas cultivadas do tipo C4 caracterizam-se por apresentar respostas pronunciadas, em termos de produção de fitomassa, ao nitrogênio aplicado como fertilizante (BOLTON; BROWN, 1980). Entretanto, os mecanismos fisiológicos envolvidos com a utilização de N ainda não são totalmente esclarecidos. O nitrogênio absorvido propicia aumento na atividade meristemática da parte aérea (MARSCHNER, 1986), provocando incrementos na área foliar e na intensidade de perfilhamento (NOVOA; LOOMIS, 1981). Por outro lado, níveis mais elevados de proteínas nas folhas estão associados a maiores custos energéticos, os quais podem determinar maiores consumos de carboidratos (BARNES; HOLES, 1978).

Na realidade, existe uma grande limitação de conhecimentos relacionados com os principais processos envolvidos na utilização do N. A estimativa da atividade da enzima redutase de nitrato tem sido utilizada, com sucesso, como parâmetro indicativo da resposta fisiológica de plantas submetidas a condições adversas (MEGURO; MAGALHÃES, 1982). O nitrato é a principal forma de nitrogênio inorgânico disponível no solo para as plantas e a redutase de nitrato é a primeira enzima da rota de assimilação do N-inorgânico, assumindo, portanto, papel de importância no metabolismo vegetal (DELÚ-FILHO et al., 1998; VENKATESAN; GANAPATHY, 2004; LAVRES; SANTOS; MONTEIRO, 2010).

A assimilação redutiva do nitrogênio é um processo dispendioso energeticamente às plantas, razão porque ocorre predominantemente nas folhas, centro da síntese de energia (ATP) e agentes redutores (fornecedores de elétrons). Segundo Bloom et al. (1992), o processo de incorporação do nitrogênio compete com a fotossíntese por carboidrato e energia, consumindo 12 ATPs para cada nitrogênio assimilado pela planta. Estudos evidenciam que a

atividade da enzima redutase do nitrato é o principal processo limitador da assimilação do nitrogênio na maioria das plantas (SRIVASTAVA, 1990; LEA, 1997).

Nas condições de colheita de “cana crua”, devido às dificuldades encontradas na incorporação do fertilizante no solo, são poucos os trabalhos em que a cana-de-açúcar utilize mais de 40 % do N-fertilizante (TRIVELIN et al., 1996). Como fator agravante, tem-se que a ureia é a fonte nitrogenada mais utilizada na cultura, ampliando os riscos de perdas de N por volatilização de amônia (NH_3) quando alocada superficialmente em solos coberto por palhada. Lara Cabezas e Yamada (1999) registraram perdas de N da ureia por volatilização de amônia acima de 30% em plantio convencional (aplicação superficial no solo) e acima de 70% em plantio direto (aplicação na superfície da palha), em Latossolo Vermelho Amarelo (arenoso) e Latossolo Vermelho Escuro, em uma mesma safra agrícola. Dessa forma, a presença da palha cobrindo o solo modifica as condições do agrossistema, exigindo melhorias no manejo da fertilização nitrogenada e maior entendimento sobre a resposta das plantas quanto ao suprimento de nitrogênio, permitindo assim, manejar ou modificar o sistema de cultivo para melhorar a eficiência na utilização de N.

O trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar características produtivas e nutricionais da cultura da cana-de-açúcar (“cana crua”) de modo a identificar, pelo critério da eficiência agronômica, a melhor entre as fontes comerciais aplicadas em superfície (ureia, nitrato de amônio e sulfato de amônio) comparadas a outras fontes alternativas como cloreto de amônio e nitrato de amônio, contendo cálcio e magnésio, assim como pela dose de nitrogênio aplicada como cloreto de amônio.

2.2 Material e métodos

2.2.1 Histórico da área experimental

Na área escolhida para o estudo, a cana-de-açúcar vinha sendo cultivada sucessivamente há pelo menos 30 anos, com longo histórico de corte manual e com queima prévia do canavial. A colheita mecanizada sem queima das folhas de cana-de-açúcar havia sido adotada um ano antes da instalação do estudo. As principais operações realizadas no preparo do solo antes do plantio foram: gradeação pesada para matar a soqueira antiga; subsolagem para quebrar a compactação do solo; gradeação pesada para incorporação de corretivos (2 Mg ha^{-1} de calcário dolomítico e 2 Mg ha^{-1} de gesso agrícola) e gradeação média para o preparo final do solo antes da sulcação.

O plantio da cana-de-açúcar (cultivar SP89-1115) foi realizado em 8 de março de 2008, em linhas (sulcos) espaçadas por 1,5 m. A cana-planta foi colhida mecanicamente sem despalha a fogo em 15 de junho de 2009 e os resíduos culturais (ponteiros, folhas e pedaços de colmos) depositados na superfície do solo (Figura 1a).

2.2.2 Local e caracterização da área experimental

O experimento foi conduzido em condições de campo, em área comercial de cana-de-açúcar de primeira soqueira durante a safra agrícola 2009/2010, pertencente a Usina Iracema, Grupo São Martinho, localizada na região de Piracicaba/SP, nas coordenadas geográficas: latitude Sul de 22°35'', longitude Oeste de 47°37'', e altitude de 619 m.

O clima predominante da região de Piracicaba é Cwa, subtropical úmido, conforme classificação de Köppen, com verão chuvoso e inverno seco, sendo de 1230 mm a pluviosidade média anual; as temperaturas médias mensais variam de 25,4 °C no verão a 17,9 °C no inverno, com média anual de 21,6 °C.

Figura 1- (a) Panorama da área experimental após a colheita da cana-planta antes da instalação do experimento; (b) classificação do solo do local do estudo

2.2.3 Características do cultivar de cana-de-açúcar SP89-1115

O cultivar de cana-de-açúcar SP89-1115 caracteriza-se pela alta produtividade e ótima brotação de soqueira (inclusive sob a palha), além da precocidade e alto teor de sacarose. É recomendada para colheita até o meio da safra (abril a julho), respondendo positivamente à melhoria dos ambientes de produção. Apresenta hábito semi-ereto e baixa fibra; floresce freqüentemente, porém com pouca isoporização. Mostrou-se resistente ao carvão, mosaico,

ferrugem marrom (*Puccinia melanocephala*), escaldadura e amarelecimento, sendo suscetível à broca e a ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehnii*) (COPERSUCAR, 2003).

2.2.4 Classificação e caracterização física e química do solo

O solo foi classificado como LATOSSOLO VERMELHO distrófico (Figura 1b) (EMBRAPA, 2006), referente ao Typic Hapludox segundo classificação americana (SOIL SURVEY STAFF, 2010). As Tabelas 1 e 2 relacionam os atributos químicos e físicos das amostras compostas de terra coletadas a 20 cm do centro da linha de cana-de-açúcar, até 1 m de profundidade, antes da instalação do experimento.

A caracterização física e química do solo foi realizada a partir da coleta de amostras indeformadas para determinação da densidade, pelo método do anel volumétrico (BLAKE; HARTGE, 1986), e de amostras deformadas, para análise química e granulométrica, pelo método do densímetro (GEE; BAUDER, 1986). Os atributos químicos de solo foram analisados segundo as metodologias: pH - CaCl_2 0,01 mol L^{-1} ; carbono orgânico – método colorimétrico; fósforo – extração por resina trocadora de íons e determinação por colorimetria; potássio – extração por resina trocadora de íons e determinação por fotometria de chama (RAIJ et al., 2001); enxofre – NH_4 OAc 0,5N em HOAc 0,25N (VITTI, 1989); cálcio e magnésio – extração por resina trocadora de íons e determinação por espectrometria de absorção atômica; H+Al – determinação por potenciometria em solução tampão SMP (RAIJ et al., 2001).

Tabela 1 - Características químicas do solo antes da adubação

Prof.	CO	pH	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	V	m
cm	g dm^{-3}	CaCl_2	mg dm^{-3}				mmolc dm^{-3}				—%—	
0 – 20	22,6	4,6	29	4,3	13	6	5	72	23,3	95,3	24	18
20 – 40	19,1	4,6	29	4,6	29	12	5	80	45,6	125,6	36	10
40 – 60	18,6	4,3	5	4,9	13	8	11	98	25,9	123,9	21	30
60 – 80	13,9	4,1	2	5,5	8	6	13	98	19,5	117,5	17	40
80 -100	12,8	4,2	1	4	9	8	13	88	21	109	19	38

N total (0-20 cm) = 1,4 g kg^{-1} (BARRIE; PROSSER, 1996)

Tabela 2 - Características físicas do solo antes da adubação

Profundidade (cm)	Areiag kg ⁻¹	Silte g kg ⁻¹	Argila	Densidade ⁽¹⁾ kg m ⁻³	Classe textural
0-20	470	20	510	1,5	argilosa
20-40	450	20	530	1,5	argilosa
40-60	480	20	500	1,3	argilosa
60-80	400	20	580	1,3	argilosa
80-100	440	30	530	1,2	argilosa

⁽¹⁾ Densidade: densidade aparente do solo

2.2.5 Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com quatro repetições. Os fatores de estudo foram compostos de oito tratamentos, detalhados na tabela 3, além de um controle - sem a aplicação de N-mineral.

Os fertilizantes nitrogenados foram aplicados manualmente sobre a superfície da palha residual de cana-de-açúcar, em filete (faixa) distante 20 cm da linha da cultura, aos 130 dias após a colheita da cana-planta (28 de setembro de 2009). Adicionalmente ao N, aplicaram-se em todos os tratamentos 90 kg ha⁻¹ de K₂O, na forma de cloreto de potássio, conforme recomendação de Espironelo et al. (1997). As parcelas experimentais possuíam dimensões de 202,5 m², contendo cada parcela 10 linhas de 15 m, com espaçamento de 1,5m entre linhas.

Tabela 3 – Tratamentos do estudo: fontes de nitrogênio e doses de N

Fontes de N (SIGLA)	% de N	Formas de N	Doses de N (kg ha ⁻¹)
Sulfato de amônio (SA)	21	NH ₄ ⁺	100
Nitrato de amônio (NA)	32	NO ₃ ⁻ e NH ₄ ⁺	100
Ureia (UR)	45	NH ₂	100
¹ YaraBela Nitromag TM (NITRO)	27	NO ₃ ⁻ e NH ₄ ⁺	100
² Cloreto de amônio (CA)	25	NH ₄ ⁺	50, 100, 150 e 200
Controle (CONTROLE)	-	-	-

¹O NitromagTM, de constituição semelhante ao nitrato de amônio e cálcio, apresenta-se na forma sólida e possui, além de nitrogênio, 7 e 3% de cálcio e magnésio, respectivamente, provenientes de pó fino de dolomita.

²O cloreto de amônio apresenta-se na forma sólida, contendo além de nitrogênio, 65% de cloro

2.2.6 Avaliação da palha residual após a colheita da cana-de-açúcar

A massa de matéria seca média da palhada deixada no campo após a colheita da cana-planta, antes da instalação do experimento, foi de $17,2 \text{ Mg ha}^{-1}$, sendo esse valor obtido por meio de amostragens realizadas ao acaso na área experimental (Figura 2). Foram obtidas as massas de 20 amostras de unidades amostrais de 1m^2 que posteriormente constituíram amostras compostas de cinco repetições.

Figura 2 -Fitomassa de resíduos culturais na área experimental após a colheita da cana-planta e antes da implantação do experimento

2.2.7 Acúmulo de fitomassa seca da parte aérea

Para avaliar a produção de fitomassa seca da cana-de-açúcar ao final do ciclo de crescimento (colmo, palha e ponteiro), aos 218 dias após a adubação (d.a.a.), colheu-se diretamente em campo todo o material vegetal da parte aérea das plantas em 2 metros de sulco, sendo uma amostra por parcela em local previamente determinado (linha 6). Procedeu-se a contagem do número de perfilhos dessas amostras e a massa do material foi mensurada por meio de pesagem em balança eletrônica, obtendo-se a massa média por perfilho. Fez-se, também, a contagem de perfilhos em 15 m de linha de soqueira, de cada parcela (três segmentos de 5 m em cada parcela), calculando-se posteriormente, o número médio de perfilhos por hectare (1 hectare possuindo 6.667 m de sulcos). Considerando o espaçamento de 1,5 m nas entrelinhas, a produtividade de colmo por hectare foi calculada multiplicando o número de perfilhos por hectare pela massa média de um perfilho. A produtividade de material vegetal da parte aérea foi expressa em Mg ha^{-1} .

Após a pesagem em campo do material vegetal da parte aérea da cana-de-açúcar, as amostras com umidade natural foram trituradas em picadoras, tomando-se sub-amostras desse material que foram acondicionadas em sacos plásticos hermeticamente fechados. Essas sub-amostras foram levadas para o laboratório, pesadas em balança analítica (para obtenção da massa da subamostra com umidade natural) e posteriormente secas em estufa ventilada a 65°C. As amostras secas foram então pesadas e procedeu-se a correção da umidade do material vegetal colhido em campo.

2.2.8 Avaliação do estado nutricional da cultura da cana-de-açúcar

Para avaliação do estado nutricional da cana-de-açúcar, no estágio de máximo desenvolvimento da cultura, em fevereiro de 2010 (150 dias após a adubação) foram coletadas folhas-diagnóstico segundo Raij e Cantarella (1997). Em cada parcela foram coletadas aleatoriamente cinco folhas na posição +1, identificadas segundo o sistema Kuijper (DILLEWIJN, 1952), as quais constituíram uma amostra composta. De cada folha (F+1) foi coletado apenas o terço médio, aproximadamente 20 cm, excluindo-se a nervura central. A F+1 é a primeira folha, a partir do topo da planta, que apresenta visível o ponto de separação entre limbo e bainha foliar denominado de “colarinho” (TVD: “Top Visible Dewlap”). Essas amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C. As amostras secas foram moídas em moinho tipo Wiley (30 “mesh size”) e nelas realizadas as determinações de concentrações de macronutrientes, segundo Malavolta, Vitti e Oliveira (1997).

2.2.9 Medida relativa do teor de clorofila em folhas de cana-de-açúcar

Os métodos utilizados para a extração de clorofila em folhas de vegetais são destrutivos e baseiam-se na utilização de solventes orgânicos. Neste trabalho fez-se a quantificação não-destrutiva dos teores relativos de clorofila utilizando clorofilômetro portátil fornecido pela Yara International ASA, Noruega (N-TESTER). Este medidor de clorofila é uma modificação do SPAD 502 (Minolta, Japão), ambos com o mesmo princípio de medição, no entanto, os valores são apresentados em escala diferente.

As leituras foram realizadas em campo no terço médio de trinta lâminas de folhas +1 em dezembro de 2009 e fevereiro de 2010, respectivamente aos 90 e 150 dias após a adubação da primeira soqueira (Figura 3). Nessas mesmas folhas, foi realizada determinação de N total pelo método semimicro Kjeldahl (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).

Figura 3 - Estimativa da concentração de clorofila na F+1 por meio do clorofilômetro N-TESTER

Os valores obtidos por meio das leituras com o clorofilômetro N-TESTER foram extrapolados 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).

2.2.10 Determinação de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides

Após as leituras com o clorofilômetro, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, hermeticamente fechados e mantidas em caixa de isopor contendo gelo. Posteriormente, as amostras foram levadas para o laboratório para a determinação dos conteúdos de clorofila *a*, *b* e carotenóides. Aproximadamente 0,2 g de amostra vegetal com umidade natural foram colocadas em tubos de ensaio numerados, onde foram adicionados 5 mL de Dimetil sulfóxido (DMSO). Os tubos de ensaio com as folhas imersas foram então incubados em banho-maria a temperatura de 70 °C por um período de 150 minutos (HISCOX; ISRAELSTAM, 1979). Após o resfriamento do extrato líquido, uma alíquota de 3 mL foi utilizada para leituras em 470, 649 e 665 nm em espectrofotômetro. A partir das leituras obtidas no espectrofotômetro determinou-se o conteúdo das clorofilas *a*, *b* e o conteúdo de carotenóides utilizando-se as equações propostas por Wellburn (1994).

2.2.11 Atividade da enzima Redutase do Nitrato

A quantificação da atividade “in vivo” da enzima redutase do nitrato (RN) foi realizada na folha +1 pelo método de Mulder et al. (1959), nos meses de dezembro de 2009 e fevereiro de 2010, respectivamente aos 90 e 150 dias após a adubação. Foram coletadas cinco folhas por parcela, de modo aleatório. As folhas foram coletadas sempre às 8 horas da manhã, acondicionadas em sacos plásticos umedecidos, mantidas em caixa de isopor com gelo e levadas imediatamente ao laboratório para determinação da atividade da enzima.

A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 540 nm, sendo a atividade da enzima determinada pela quantidade de nitrito (NO_2^-) produzida, obtida por meio de uma curva padrão para esse íon, previamente estabelecida para cálculo da concentração de NO_2^- do meio. Os resultados da redutase do nitrato foram expressos em $\mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ de material vegetal fresco.

As concentrações de nitrogênio inorgânico (nitrato + nitrito e amônio) na folha +1 foram determinadas por destilação a vapor segundo metodologia descrita em Tedesco et al. (1995).

2.2.12 Condutividade elétrica do solo

A condutividade elétrica do solo (CE) foi determinada nos tratamentos com doses de cloreto de amônio e no controle (sem aplicação de N-mineral) aos 60 dias após a adubação de acordo com metodologia proposta por Raij et al. (2001), a fim de expressar a concentração total de sais. A relação solo:água (deionizada) utilizada foi de 1:5 e os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1}$.

2.2.13 Avaliação da produtividade final de colmos (TCH)

A produtividade final de colmos por hectare (TCH) foi avaliada em maio de 2010, mediante o corte mecânico (colhedora da marca CASE IN, modelo 7700 com motor de 335 cv de potência) e pesagem da cana picada em caminhão transbordo instrumentado contendo célula de carga do Centro de Tecnologia Canavieira (CTC). Foram colhidas quatro linhas por parcela (linhas 2, 3, 4 e 5), totalizando 60 metros lineares por parcela. Os resultados de cada parcela foram extrapolados para um hectare considerando-se existir 6.667 metros de sulcos 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}) determinações essas realizadas segundo Fernandes (2003). Entende-se como fibra os constituintes insolúveis; como Pol (%) o teor de sacarose aparente; como °Brix o teor de sólidos solúveis, como AR os açúcares redutores (glicose + frutose); como ATR o açúcar total recuperável e como pureza a porcentagem de sacarose nos sólidos solúveis. A produtividade de açúcar (TPH) foi obtida por meio do produto entre a TCH e a concentração de sacarose (Pol % cana) correspondente de cada parcela, dividido por 100.

2.2.14 Avaliação da massa seca de raízes e rizoma

A avaliação de fitomassa seca de raízes foi realizada segundo Faroni e Trivelin (2006) utilizando sonda em aço inox, com 0,055 m de diâmetro interno, até a profundidade do solo de 0,4 m. Foram coletadas duas amostras sobre a linha de cana, distantes 3,75 m do centro; duas a 0,3 m da linha e duas a 0,6 m (cada uma de um lado da linha), de modo que essas seis amostras representassem todo perfil de solo explorado pelo sistema radicular, conforme esquema apresentado por Otto (2012).

A separação das raízes e rizomas do solo foi realizada em campo, utilizando peneiras com malha de 2 mm e no laboratório as amostras de raízes foram lavadas primeiramente em água corrente e em seguida com água deionizada, sobre peneiras com malha de 1 mm, sendo posteriormente secas em estufa a 65° C, para quantificação da umidade. Foi realizada também amostragem dos rizomas subterrâneos em 1 m de sulco de linha da cana, coletando-se todos os rizomas por peneiramento em peneira com malha de 2 mm. Posteriormente a massa de matéria seca de raízes e rizomas foram extrapoladas para serem expressos em Mg ha^{-1} .

2.2.15 Balanço hídrico climatológico durante o ciclo da primeira soqueira de cana-de-açúcar

Para a elaboração do balanço hídrico climatológico foram utilizados dados de radiação solar, temperatura ambiente e pluviométricos obtidos em estação meteorológica automática instalada no Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) distante 16 km da área experimental. A partir destes dados elaborou-se o balanço hídrico utilizando planilhas eletrônicas (ROLIM; SENTELHAS; BARBIERI, 1998).

Figura 4 - Balanço climatológico no ciclo agrícola de primeira soqueira de cana-de-açúcar (safra 2009/2010). DEF: déficit hídrico, EXC: excedente hídrico, ETP: evapotranspiração potencial, ETR: evapotranspiração real. As setas em vermelho indicam a época de adubação e a época de amostragem da parte aérea - biometria (Bio)

2.2.16 Análise dos resultados

Os resultados foram submetidos à análise de variância utilizando o teste F, ao nível de 95% de confiança, por meio do uso do software SAS (SAS, 1996). Posteriormente para as causas de variação significativas aplicou-se o teste Tukey ($p < 0,05$) para comparar o efeito do fator fontes de N e a análise de regressão para verificar o efeito das doses de N. Realizou-se também, a correlação de Pearson entre os parâmetros nutricionais e produtivos da cultura.

2.3 Resultados e discussão

Os conteúdos de clorofila *a* e *b* variaram em função dos tratamentos nas duas épocas de avaliação (Tabela 4). Aos 90 d.a.a. o conteúdo de clorofila *a* foi inversamente proporcional ao de clorofila *b*, sendo os valores médios de carotenóides semelhantes aos de clorofila *b*. Nas duas épocas de avaliação os resultados mostraram que o conteúdo de clorofila *a* e *b* se apresentaram em uma proporção média de 3:1, respectivamente. Esses resultados estão de acordo com os apresentados na literatura (VON ELBE, 2000). As variações nas proporções de clorofila *a* e *b* é uma característica importante nos vegetais, pois possibilita a maior captação de energia em diferentes comprimentos de onda.

É possível observar na Tabela 4 que os conteúdos de clorofilas e carotenóides aos 150 d.a.a. diminuíram substancialmente em comparação aos 90 d.a.a. A deficiência em clorofila é evidente pela aparência clorótica das plantas e são diversos os fatores que contribuem para esse estado clorótico: quando o equilíbrio mineral é perturbado; durante épocas de seca; após doenças; quando expostas a gases nocivos; entre outros. É importante ressaltar que no presente experimento houve infestação de ferrugem alaranjada, tendo em vista o clima úmido e quente predominante entre os meses de setembro de 2009 a março de 2010, o que favoreceu o desenvolvimento do fungo (*Puccinia kuehnii*), proporcionando, provavelmente, redução da área fotossintética da cultura.

Tabela 4 – Concentrações de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides na F+1 em função da aplicação de fontes de N na dose de 100 kg ha⁻¹

Fontes N	90 d.a.a.			150 d.a.a.		
	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Carotenóides	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	carotenóides
	µg g ⁻¹ de folha.....					
CONTROLE	96,3 b	38,1 a	29,2 ab	7,1 a	2,4 a	2,7
NITRO	104,7 b	33,2 ab	28,7 ab	4,8 b	1,5 ab	2,5
NA	108,1 b	34,9 a	27,9 ab	5,8 ab	1,5 ab	2,4
SA	127,6 a	27,1 b	30,9 a	5,5 b	1,5 ab	2,4
UR	93,4 b	39,8 a	26,5 b	4,4 b	1,2 b	2,4
DMS	17,3	7,6	4,4	1,6	1,1	0,7
Valor F	***	***	ns	***	**	ns
CV (%)	8,5	11,4	8,0	14,9	35,8	15,4

NITRO: YaraBela NitromagTM, NA: nitrato de amônio, SA: sulfato de amônio, UR: ureia. Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey. ** e *** significativos a 5 e 1 % de probabilidade, respectivamente; ns: não significativo; DMS: diferença mínima significativa; CV (%): Coeficiente de variação

Aos 90 d.a.a. as plantas adubadas com sulfato de amônio foram as que apresentaram as maiores concentrações de clorofila *a* e carotenóides, diferindo significativamente dos demais tratamentos (Tabela 4). Com relação à concentração de clorofila *b* aos 90 d.a.a. a menor concentração no tratamento SA é uma evidência de que os conteúdos de clorofilas *a* e *b* são inversamente proporcionais.

Aos 150 d.a.a. o controle se apresentou com concentração igual ou superior de clorofila *a* e *b* aos demais tratamentos (Tabela 4). Esse resultado também é um forte indicativo de que nessa época a infestação de ferrugem alaranjada encontrava-se em estágio avançado nas folhas, reduzindo e igualando dessa forma, o conteúdo de clorofila e carotenóides no aparato fotossintético dos tratamentos. Em trabalho realizado por Donato et al (2004), cujo objetivo foi avaliar a eficiência no processo de assimilação do nitrogênio e encontrar parâmetros indicativos do potencial de fixação biológica em variedades de cana-de-açúcar, os autores concluíram que a redução nos níveis de nitrogênio ou ausência de adubação não afetaram significativamente o conteúdo das clorofilas *a* e *b* das plantas.

Houve efeito de fontes de N no valor SPAD e na concentração de N total da folha diagnóstico aos 90 d.a.a. (Tabela 5). O maior índice SPAD foi obtido para o tratamento SA (41), que diferiu do tratamento NA (39) e controle. Com relação à concentração de N total aos

90 d.a.a. o tratamento UR foi o que apresentou mais elevada concentração, diferindo apenas do controle.

Aos 150 d.a.a., apesar de a estatística ter se mostrado significativa para os valores SPAD, não foi evidenciado efeito da adubação nitrogenada no N-total. O controle apresentou valor SPAD igual ou superior aos tratamentos com aplicação de fontes de N, não havendo também diferença entre os tratamentos na concentração de N total na folha diagnóstico (Tabela 5). Esses resultados corroboram os apresentados na Tabela 4, cujos resultados inferem que a infestação de ferrugem alaranjada foi fator limitante para ausência de resposta nos parâmetros fisiológicos e nutricionais aos 150 d.a.a. Diversos trabalhos têm constatado a existência de correlação entre as leituras do clorofilômetro e o teor de clorofila em cereais (ARGENTA et al., 2001), algodoeiro herbáceo (NEVES et al., 2005), feijoeiro (CARVALHO et al., 2003), tomate (GUIMARÃES et al., 1999), e em planta forrageira (LAVRES; SANTOS; MONTEIRO, 2010).

O uso do clorofilômetro também tem se mostrado eficiente para prever o estado nutricional e o nível de stress fisiológico e hídrico da cultura da cana-de-açúcar. Guimarães (2011) avaliou os efeitos do déficit hídrico, em 20 variedades de cana-de-açúcar, e constatou que a estimativa do conteúdo de clorofila por meio do clorofilômetro SPAD mostrou-se eficiente para diferenciar variedades de cana-de-açúcar tolerantes e sensíveis à deficiência hídrica. Silva et al. (2007), também consideraram o conteúdo relativo de clorofila estimado por meio do índice SPAD uma ferramenta eficaz para diferenciar cultivares de cana-de-açúcar tolerantes e sensíveis à deficiência hídrica. Kölln (2012) objetivando quantificar o acúmulo de matéria seca em cana-de-açúcar fertirrigada com doses de N e duas disponibilidades hídricas contrastantes correlacionou os resultados obtidos com avaliações fisiológicas como o índice SPAD. O autor constatou redução do índice SPAD ao longo do ciclo da soqueira, variando em média de 40 para 30 unidades. Ainda, segundo o autor, houve correlação altamente significativa entre o índice SPAD e teor de N na folha+1 de cana-de-açúcar, sendo o clorofilômetro considerado eficiente para estimar o estado nutricional em nitrogênio da cana-de-açúcar ao longo do ciclo de desenvolvimento.

Tabela 5 – Valor SPAD e N total na folha+1 em função da aplicação de fontes de N na dose de 100 kg ha⁻¹ de N

Fontes N	90 d.a.a.		150 d.a.a.	
	SPAD	N total (g kg ⁻¹)	SPAD	N total (g kg ⁻¹)
CONTROLE	39 b	22 b	34 a	22
NITRO	40 ab	23 ab	33 ab	19
NA	39 b	23 ab	31 ab	19
SA	41 a	23 ab	31 ab	20
UR	40 ab	24 a	30 b	20
DMS	1,8	1,5	3,2	3,2
Valor F	**	**	**	ns
CV (%)	2,3	3,4	5,3	8,5

NITRO: YaraBela NitromagTM, NA: nitrato de amônio, SA: sulfato de amônio, UR: ureia. Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey. ** significativo a 5% de probabilidade; ns: não significativo; DMS: diferença mínima significativa; CV (%): Coeficiente de variação

Os tratamentos NITRO e NA foram os que apresentaram maior atividade da enzima redutase do nitrato aos 90 d.a.a., diferindo dos tratamentos sulfato de amônio e ureia (Tabela 6). Andrade (1994) trabalhando com capim-colonião e proporções de $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ verificou que a atividade “in vitro” da RN aumentou significativamente quando foram fornecidas ambas as fontes de nitrogênio, indicando certa ação estimulatória do íon amônio na atividade da enzima. A maior atividade da enzima redutase do nitrato aos 90 d.a.a. para os tratamentos NITRO e NA coincidiu com as maiores concentrações de N-NO_3^- na folha. Mariano (2010) avaliou a variação temporal das formas de N-mineral (NO_3^- e NH_4^+) com aplicação de fontes de N no mesmo solo do presente estudo. O autor verificou que a aplicação das fontes NITRO e NA aumentaram as concentrações de N-NO_3^- no solo nas camadas de 0-20 e 20-40 cm.

Segundo Beevers et al. (1969), a enzima redutase do nitrato é induzida pelo substrato nitrato, sendo essa indução relativamente forte, ou seja, na ausência de nitrato no substrato, a redutase do nitrato se apresenta com baixa atividade. Plantas expostas a concentrações externas de nitrato apresentam aumento na atividade da enzima redutase do nitrato no intervalo de duas a seis horas de exposição a estes tratamentos (LI; OAKS, 1993; LA HABA et al., 1988; OAKS et al., 1982; SRIVASTAVA, 1980; STTIT; KRAPP, 1999; REMMLER; CAMPBELL, 1986). Porém, alguns pesquisadores relataram que o “pool” celular de nitrato não está, necessariamente, correlacionado com a atividade da enzima RN (NAMBIAR et al., 1988; SECHLEY et al., 1992). Estudos com células isoladas ou com protoplastos de diferentes espécies vegetais mostram que 58% a 99% do nitrato total é estocado no vacúolo

(OSCARSON et al., 1987). Além da indução por nitrato, a atividade da redutase do nitrato pode ser aumentada por outros fatores de crescimento das plantas, tais como: luz, açúcares ou CO₂ (KAISER; HUBER, 1994).

As concentrações de N-NO₃⁻ na F+1 (Tabela 6) estão de acordo com as concentrações indicadas por Fernandes e Rossiello (1995). Segundo os autores a concentração de nitrato no tecido vegetal pode atingir em torno de 10 g kg⁻¹ da massa de matéria seca do vegetal, porém na média, varia de 0 a 2 g kg⁻¹. As plantas podem absorver e acumular grandes quantidades de nitrato nos seus tecidos sem assimilá-lo e, conseqüentemente, não sendo incorporado na forma de aminoácidos e proteínas.

Aos 150 d.a.a. o aumento na atividade da enzima redutase do nitrato nas plantas adubadas com N foi acompanhado por decréscimo nas concentrações de N-NO₃⁻ e aumento das concentrações de N-NH₄⁺, indicando que parte do nitrato presente nas folhas foi reduzido a amônio. Para as plantas do controle a enzima RN apresentou atividade quase nula (Tabela 6). No entanto, segundo Donato et al. (2004) que avaliaram a atividade enzimática em variedades de cana-de-açúcar cultivadas *in vitro* sob níveis de N, a atividade de enzimas como a redutase do nitrato e glutamina sintetase está presente nas variedades de cana-de-açúcar mesmo na ausência de nitrogênio. Os tratamentos NA e SA apresentaram as maiores atividades da enzima, diferindo dos tratamentos NITRO, UR e do controle. A maior atividade da enzima redutase do nitrato para os tratamentos NA e SA coincidiu com as maiores concentrações de N-NO₃⁻ na folha.

Tabela 6 – Atividade da enzima redutase do nitrato e concentrações de nitrato e amônio na folha+1 em função da aplicação de fontes de N na dose de 100 kg ha⁻¹

Fontes N	90 d.a.a.			150 d.a.a.		
	Redutase	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₃ ⁻	Redutase	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₃ ⁻
	μmol g ⁻¹ h ⁻¹ NO ₂ ⁻	mg kg ⁻¹		μmol g ⁻¹ h ⁻¹ NO ₂ ⁻	mg kg ⁻¹	
CONTROLE	0,20 d	119,0 b	35,3 d	0,002 d	1395,6	144,7 bc
NITRO	0,36 a	118,5 b	406,0 a	1,0 c	1366,8	130,7 bc
NA	0,38 a	97,1 b	394,3 a	1,7 a	1553,1	374,5 a
SA	0,32 b	96,8 b	299,2 b	1,8 a	1420,1	207,7 b
UR	0,27 c	153,1 a	240,6 c	1,4 b	1247,2	78,2 c
DMS	0,04	26,8	105,1	0,2	478,4	118,8
Valor F	***	***	***	***	ns	***
CV (%)	6,9	12,0	20,7	9,9	17,9	33,2

NITRO: YaraBela NitromagTM, NA: nitrato de amônio, SA: sulfato de amônio, UR: ureia. Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey. *** significativo a 1 % de probabilidade; ns: não significativo; DMS: diferença mínima significativa; CV (%): Coeficiente de variação

Não foi evidenciada diferença na concentração de N-NH_4^+ entre os tratamentos aos 150 d.a.a., no entanto, pode-se observar que houve aumento expressivo das concentrações no intervalo de 60 dias entre as avaliações (Tabela 6). De acordo com Srivastava (1980) o amônio pode apresentar desde efeito inibidor até efeito estimulador da enzima. Segundo Sttit e Krapp (1999) a atividade da enzima redutase do nitrato parece ser afetada pelo amônio por meio da redução na absorção de nitrato, ou por interferência com sua síntese e degradação ou ainda por indução da síntese de proteína regulatória específica para a RN (SRIVASTAVA, 1980). Os efeitos estimuladores podem ser devidos ao favorecimento da síntese da proteína redutase do nitrato, ou mesmo pela síntese de uma proteína reguladora específica da enzima (REMMLER; CAMPBELL, 1986; OAKS, 1994; SIHAG et al., 1979). Datta et al. (1981) observaram que o amônio estabiliza a atividade da RN em folhas de trigo, por meio de algum mecanismo “in vivo” ainda não identificado. Segundo Oaks (1994) adição ao solo de nitrato e amônio, quando comparado com adição única de nitrato, geralmente aumenta os níveis da RN em raízes e folhas de plântulas.

Para verificar as correlações entre os parâmetros nutricionais e produtivos na folha diagnóstica foram utilizadas as correlações de Pearson (Tabela 7). As concentrações de clorofila *a* se correlacionaram positivamente com conteúdo de carotenóides, valor SPAD, N-NO_3^- e produtividade de colmos; e negativamente com as concentrações de N-NH_4^+ e clorofila *b* corroborando os dados apresentados na Tabela 4. Para as concentrações de clorofila *b* foi verificada correlação positiva apenas com N-NH_4^+ , por sua vez, as correlações negativas foram verificadas para concentração de carotenóides, N-NO_3^- e valor SPAD. As clorofilas são os pigmentos responsáveis pela coloração verde das plantas e se apresentam sob duas formas, Clorofila *a* (coloração verde-azulada) e clorofila *b* (verde-amarelada). A correlação positiva do valor SPAD com a clorofila *a* pode estar diretamente relacionada à faixa de comprimentos de ondas associados à atividade da clorofila. O medidor portátil de clorofila possui diodos que emitem luz na faixa de 650 nm (vermelho) e 940 nm (infravermelho). A clorofila *a*, é capaz de absorver uma boa quantidade de energia no comprimento de 650 a 700 nm, enquanto a clorofila *b* absorve baixa quantidade de energia nessa faixa.

Tabela 7 - Correlações de Pearson entre os parâmetros nutricionais e fisiológicos da primeira soqueira de cana-de-açúcar

	Clorofila a	Clorofila b	Carotenóides	RN	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺	SPAD	N-total	PROD
Clorofila a	x	-0,97*	0,80*	0,45	0,48	-0,77*	0,78*	-0,07	0,54*
Clorofila b	x	x	-0,83*	-0,48	-0,53*	0,75*	-0,84*	0,08	-0,66*
Carotenóides	x	x	x	-0,02	0,03	-0,72*	0,61*	-0,50*	0,87*
RN	x	x	x	x	0,99*	-0,46*	0,33	0,27	0,04
N-NO ₃ ⁻	x	x	x	x	x	-0,43	0,42	0,30	0,10
N-NH ₄ ⁺	x	x	x	x	x	x	-0,27	-0,27	-0,68*
SPAD	x	x	x	x	x	x	x	0,36	0,40
N-total	x	x	x	x	x	x	x	x	-0,66*
PROD	x	x	x	x	x	x	x	x	x

RN: redutase do nitrato; PROD: produtividade de colmos. *: significativo a 1% de probabilidade

A atividade da enzima redutase do nitrato teve elevada correlação com as concentrações de N-nitrato na folha ($r = 0,99^*$). Apesar de significativa, a correlação negativa da atividade da enzima com a concentração de N-NH₄⁺ foi baixa ($r = -0,46^*$). As correlações inversas de N-NH₄⁺ e N total com a produtividade de colmos podem ter ocorrido em função do “efeito diluição”, ou seja, com o maior crescimento das plantas pode ocorrer decréscimo nas concentrações de nutrientes nas folhas.

Vários autores evidenciaram para diversas culturas, que a concentração de clorofila está diretamente correlacionada com a concentração de nitrogênio nas folhas e, por conseguinte, com a nutrição e a produção vegetal (ABREU; MONTEIRO, 1999; COSTA et al., 2001; HUSSAIN et al., 2000; CARVALHO et al., 2003; SORATTO et al., 2004; GUIMARÃES et al., 1999). Neste estudo não foi encontrada correlação significativa das concentrações de N total na folha diagnóstico da cana-de-açúcar com o valor SPAD.

Dentre os macronutrientes, somente o enxofre apresentou concentração inferior àquela da faixa de valores considerados adequados para o Estado de São Paulo (RAIJ; CANTARELLA, 1997). Com exceção ao tratamento UR, as fontes nitrogenadas, assim como o controle, apresentaram concentrações de nitrogênio foliar que não diferiram entre si, o que pode ser um indicativo de similaridade da eficiência agrônômica dos adubos nitrogenados e da ausência de resposta à adubação nitrogenada (Tabela 8). Grande número de estudos com fertilizantes marcados com ¹⁵N tem mostrado que a maior parte do N acumulado pela planta vem do N nativo do solo (CANTARELLA; TRIVELIN; VITTI, 2007; TAKAHASHI, 1964; OLSON et al., 1979; WILSON et al., 1989; OMAI et al., 1998; SCHINDLER; KNIGHTON, 1999; STEVENS; HOEFT; MULVANEY, 2005; LÓPEZ-BELLIDO et al. 2006; SILVA et al., 2006; DOURADO-NETO et al., 2010; FRANCO et al., 2011), tendo em vista a baixa

contribuição do N dos fertilizantes nitrogenados em relação ao N total acumulado pela cana-de-açúcar.

Tabela 8 - Concentrações de macronutrientes para diagnose nutricional (folha +1) da soqueira de cana-de-açúcar em função da aplicação de fontes de N (150 d.a.a.) na dose de 100 kg ha⁻¹

Faixa de suficiência	Concentrações adequadas para o Estado de São Paulo [#]					
	N	P	K	Ca	Mg	S
	g kg ⁻¹					
	18,0 - 25,0	1,5 - 3,0	10,0 - 16,0	2,0 - 8,0	1,0 - 3,0	1,5 - 3,0
Fontes N	Concentração foliar					
	N	P	K	Ca	Mg	S
	g kg ⁻¹					
CONTROLE	21,2 a	2,5 ab	13,6	2,9 ab	1,6	1,47 ab
NITRO	18,8 ab	2,4 ab	13,8	2,2 b	1,4	1,59 a
NA	18,7 ab	2,5 ab	14,0	2,6 ab	1,5	1,32 bc
SA	20,6 a	2,6 a	13,0	2,3 b	1,5	1,49 a
CA	20,3 a	2,3 b	14,7	3,5 a	1,5	1,08 d
UR	16,8 b	2,4 ab	13,7	2,6 ab	1,7	1,29 c
DMS	2,8	0,25	2,3	1,0	0,4	0,15
Valor F	***	**	ns	**	ns	***
CV (%)	7,3	5,1	8,3	19,2	14,1	5,7

NITRO: YaraBela NitromagTM, NA: nitrato de amônio, SA: sulfato de amônio, CA: cloreto de amônio, UR: ureia. [#] Teores adequados para o Estado de São Paulo, segundo Raij e Cantarella (1997). Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey. ns: não significativo; ** e *** significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente; DMS: diferença mínima significativa; CV: coeficiente de variação

Com relação aos macronutrientes P, Ca e S, apesar de a estatística ter apontado efeito para tratamentos, não houve diferença em relação ao controle, evidenciando, em princípio, a adequada nutrição das plantas mesmo na ausência da adubação nitrogenada (Tabela 8). A cana-de-açúcar é uma cultura eficiente em aproveitar o N do solo, devido ao longo ciclo agrícola e ao abundante sistema radicular.

Não houve diferença entre os tratamentos para o número de perfilhos e produção de fitomassa seca da parte aérea aos 218 d.a.a. (Tabela 9). As condições ambientais que prevaleceram durante o período experimental foram determinantes para a expressão da capacidade de perfilhamento do cultivar, não sendo o nitrogênio fator limitante. A temperatura média entre os meses de setembro/2009, quando foi realizada a adubação, e maio/2010, quando realizada a avaliação, oscilou entre 21 a 26°C, sendo que as temperaturas máximas atingiram, em praticamente todos os meses, valores próximos à 30°C; além disso, os

índices pluviométricos foram elevados, chegando a mais de 1600 mm durante o ciclo vegetativo da cultura (Figura 4).

Tabela 9 - Número de perfilhos por metro e fitomassa seca nos compartimentos da parte aérea da soqueira de cana-de-açúcar aos 218 d.a.a., em função da aplicação de fontes de N na dose de 100 kg ha⁻¹ de N

Fontes de N	Perfilhos m ⁻¹	Colmo	Ponteiro	Folha seca Mg ha ⁻¹	Parte aérea total
CONTROLE	13,8	16,5	2,4	5,9	24,8
NITRO	12,3	15,1	2,5	6,0	23,6
NA	12,3	16,1	2,5	6,0	24,6
SA	13,0	14,6	2,6	5,1	22,3
CA	11,8	16,5	3,0	5,5	24,9
UR	12,1	14,3	2,0	5,6	21,9
DMS	5,0	5,5	1,0	2,4	7,6
Valor F	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	20,0	18,3	20,3	21,4	16,4

NITRO: YaraBela NitromagTM, NA: nitrato de amônio, SA: sulfato de amônio, CA: cloreto de amônio, UR: ureia. ns: não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. DMS: diferença mínima significativa; CV (%): Coeficiente de variação

Houve efeito das fontes de nitrogênio no acúmulo de N em colmos e ponteiros (Tabela 10). A fonte NA proporcionou maior acúmulo de N nos colmos, diferindo do controle, SA e CA, não diferindo, porém, dos tratamentos UR e NITRO. Com relação aos ponteiros, o controle, comparado aos demais tratamentos, se apresentou igual ou superior no acúmulo de N. Considerando a compartimentalização do acúmulo de N na parte aérea, o nutriente nos colmos representou em média 43% do total, ficando os ponteiros e as folhas secas com 17 e 40% respectivamente. Esses resultados indicam que mais de 50% de todo N da parte aérea permanecem no agrossistema após a exportação dos colmos industrializáveis, sendo, portanto, fonte potencial de nutrientes para o ciclo seguinte.

Tabela 10 – Acúmulo de N nos compartimentos da parte aérea de soqueira de cana-de-açúcar aos 218 d.a.a. em função da aplicação de fontes de N, na dose 100 kg ha⁻¹ de N

Fontes N	Colmo	Ponteiro	Folha seca	Parte Aérea total
.....kg ha ⁻¹				
CONTROLE	47,4 bc	28,9 a	48,6	124,8
NITRO	67,2 ab	34,3 a	41,1	142,6
NA	74,7 a	29,7 a	47,4	151,9
SA	44,1 c	13,2 b	53,1	110,4
CA	50,8 bc	16,5 b	58,5	125,8
UR	54,6 abc	12,0 b	61,9	128,4
DMS	21,9	9,9	27,0	43,2
Valor F	***	***	ns	ns
CV (%)	19,5	22,1	26,2	16,6

NITRO: YaraBela NitromagTM, NA: nitrato de amônio, SA: sulfato de amônio, CA: cloreto de amônio, UR: ureia. Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey. *** significativo a 1 % de probabilidade; ns: não significativo; DMS: diferença mínima significativa; CV (%): Coeficiente de variação

Os tratamentos não diferiram quanto à produtividade de fitomassa seca de raízes, fitomassa total da parte subterrânea da planta (raízes e rizomas) assim como no acúmulo total de N (Tabela 11). A fitomassa seca de raízes foi em média de 3 Mg ha⁻¹ e mostrou-se superior aos resultados médios encontrados por Otto (2012), que avaliou a fitomassa de raízes (na camada de 0,6 m) durante o ciclo de primeira soqueira de cana-de-açúcar em função de doses de N, em Latossolo Vermelho distrófico de textura média. O autor não constatou diferença na fitomassa de raízes para a aplicação de doses de N. Em cana-de-açúcar, a maioria dos estudos relacionados à avaliação do efeito da adubação nitrogenada no crescimento das raízes foi realizada no ciclo de cana-planta (SAMPAIO et al., 1987; THORBURN et al., 2003; OTTO et al., 2009). Sampaio et al. (1987) observou aumento na fitomassa de raízes com a aplicação de 60 kg ha⁻¹ de N. Otto et al. (2009) também observou efeito positivo do N-fertilizante no crescimento das raízes e da parte aérea ao longo do ciclo de cana-planta.

Com relação à fitomassa de rizomas, o tratamento UR foi o que apresentou mais elevada produtividade, diferindo do tratamento CA (Tabela 11). Apesar de a análise estatística ter evidenciado diferença entre os tratamentos para a produtividade de rizomas, o controle apresentou a mesma média dos demais tratamentos, não sendo, dessa forma,

evidenciado incremento na produção de fitomassa de raízes e nem da fitomassa total da parte subterrânea em função da adubação nitrogenada.

Tabela 11 – Fitomassa seca de raiz e rizoma e acúmulo de N na parte subterrânea de soqueira de cana-de-açúcar, em função da aplicação de fontes de N na dose de 100 kg ha⁻¹ de N (camada de 0,4 m)

Fontes N	Raiz	Rizoma	Fitomassa total	N raiz	N rizoma	N total
	Mg ha ⁻¹			kg ha ⁻¹		
CONTROLE	2,8	1,2 ab	4,0	18,4 ab	8,1 ab	26,5
NITRO	2,6	1,3 ab	3,9	19,5 ab	8,6 ab	28,1
SA	3,3	1,3 ab	4,6	20,9 a	8,9 ab	29,8
CA	3,2	1,0 b	4,2	16,1 ab	6,9 b	23,1
UR	2,1	1,7 a	3,8	9,4 b	12,4 a	21,8
DMS	1,4	0,6	1,5	11,0	4,6	12,4
Valor F	ns	**	ns	**	**	ns
CV (%)	29,9	22,8	21,1	34,0	26,5	25,1

NITRO: YaraBela NitromagTM, NA: nitrato de amônio, SA: sulfato de amônio, CA: cloreto de amônio, UR: ureia. Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey. ** significativo a 5% de probabilidade, ns: não significativo; DMS: diferença mínima significativa; CV (%): Coeficiente de variação

Do N-total acumulado nas plantas de cana-de-açúcar 17% foi estocado nos compartimentos subterrâneos (raízes e rizomas), representando importante fonte de reservas nutricionais para a rebrota subsequente. Da mesma forma, Otto 2012 não verificou efeito da adubação nitrogenada no aumento de enraizamento da cana-de-açúcar, e o acúmulo de N-total nos compartimentos subterrâneos em relação a parte aera total foi cerca de 15%, similares aos encontrados neste estudo.

Não houve efeito da aplicação de fontes de N na produtividade de colmos e açúcar, bem como em nenhum dos parâmetros tecnológicos avaliados (Tabela 12). Trivelin et al. (2002), Korndörfer et al. (2002), Bologna-Campbell (2007) e Franco (2008) encontraram condições semelhantes de resposta à adubação nitrogenada. A importância do N do solo para nutrição das plantas ficou evidente em diversos estudos de resposta ao N, tendo em vista que a produtividade das parcelas controle muitas vezes excedeu o aumento da produção das parcelas adubadas com N (AZEREDO et al., 1986; FREITAS et al., 1994; LORY; SCHARF, 2003; PRADO; PANCELLI, 2008; CABRERA; ZUAZNÁBAR, 2010; FRANCO et al., 2010; ROSSETTO et al., 2010).

A produtividade média de colmos do controle no mesmo nível dos demais tratamentos pode ter ocorrido em função do fornecimento de nitrogênio pela mineralização da matéria orgânica do solo e de resíduos vegetais recobrando a superfície do solo. A palha depositada sobre o solo antes da instalação do experimento foi de 17,2 Mg ha⁻¹ de massa de matéria seca, possuindo em média 52; 17; 76; 39; 13; 55 kg ha⁻¹ de N, P, K, Ca, Mg, e S, respectivamente. Segundo diversos autores, esta camada de resíduos contém de 50 a 100 kg ha⁻¹ de N e após alguns anos de implantação do sistema de cana crua, com diminuição nas perdas de solo por erosão e aumento contínuo na palha, resultarão em incrementos nos teores de matéria orgânica e nitrogênio do solo, podendo representar menor necessidade nas doses de N (ABRAMO FILHO et al., 1993; FURLANI NETO et al., 1997; CANTARELLA, 1998; COSTA, 2001; COSTA; VITTI; CANTARELLA, 2003; VALLIS et al., 1996; ROBERTSON; TRHORBURN, 2007).

Otto (2012) desenvolveu trabalho para verificar a influência da mineralização do N do solo na resposta da cana-de-açúcar à adubação nitrogenada em dez experimentos de resposta ao N, que incluía o presente experimento, e verificou que a ausência de resposta em produtividade da cana-de-açúcar à fertilização se correlacionou diretamente com o elevado conteúdo de N total hidrolisável do solo (900 mg kg⁻¹). Ainda segundo o autor, a queda consistente da concentração de NH₄⁺-hidrolisável observada durante o período de incubação implica em uma fração facilmente degradável que serve como fonte potencial de N mineralizável. Estudos conduzidos no centro-norte e nordeste dos Estados Unidos mostraram que o milho cultivado nestas regiões não responde a fertilização nitrogenada (BUNDY; MALONY 1988; BLACKMER et al., 1989; FOX et al., 1989; ROTH; FOX, 1990; MEISINGER et al., 1992; BROWN et al., 1993; SCHMITT; RANDALL, 1994). Amostras de solo coletadas dos locais (solos responsivos e não responsivos a adubação nitrogenada) foram submetidas ao fracionamento do N orgânico para verificar quais as frações específicas de N orgânico do solo estavam associadas a falta de resposta a fertilização com N e os resultados mostraram que as concentrações de N-total hidrolisável, N-NH₄ hidrolisável e N-aminoácido foram bem mais elevados nos solos não responsivos do que quando comparado com os solos responsivos a adubação com N (MULVANEY et al., 2001).

Os valores de Pol (% cana) da cana-de-açúcar do experimento foram considerados baixos (Tabela 12). Vieira et al. (2012) relataram para a mesma variedade utilizada neste experimento para estudo em outro local, teor de sacarose de 17%. Na região Centro-Sul, em função das condições para maturação, a cana-de-açúcar atinge índices mais elevados de Pol (%) cana nos meses de agosto e setembro, valendo a pena lembrar, que as variedades

precoces, via de regra, mostram maior riqueza em sacarose no início do período de moagem (abril), como é o caso da variedade utilizada neste experimento (SP89-1115).

Tabela 12 - Produtividade de colmos (TCH) e açúcar (TPH) em função da aplicação de fontes de nitrogênio na dose de 100 kg ha⁻¹

Fontes N	TCH	TPH	Pol	Pureza	Fibra	AR	ATR	°Brix
	Mg ha ⁻¹			%.....			kg Mg ⁻¹	
CONTROLE	103,3	10,0	9,8	77,6	7,2	1,9	110,0	14,1
NITRO	88,3	8,9	10,1	77,9	7,0	1,7	110,4	14,0
NA	92,6	8,9	9,5	75,6	7,0	1,8	107,5	13,8
SA	91,4	9,1	10,0	77,3	6,7	1,7	110,6	13,8
CA	91,5	8,6	9,5	74,9	6,8	1,9	107,7	13,7
UR	94,4	8,4	8,9	72,4	7,2	2,2	104,4	13,4
DMS	31,8	3,1	1,6	5,3	0,7	0,5	10,4	1,3
Valor F	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	17,4	17,4	8,1	3,5	5,0	13,7	4,8	4,8

NITRO: YaraBela NitromagTM, NA: nitrato de amônio, SA: sulfato de amônio, CA: cloreto de amônio, UR: ureia. ns: não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. DMS: diferença mínima significativa; CV (%): Coeficiente de variação

O aumento das doses de nitrogênio na forma de cloreto de amônio (N-CA) provocou redução na produtividade de colmos e açúcar (Figura 5). A redução na produtividade pode estar relacionada ao efeito do excesso de cloro no solo, uma vez que o ânion Cl⁻ representa 65% da composição do cloreto de amônio e o N somente 25%. Barati et al. (2006), estudando o efeito de fontes de nitrogênio sobre a produtividade do arroz no Irã, concluíram que o tratamento cloreto de amônio proporcionou menor produção de grãos quando comparado às outras fontes. Em contrapartida, resultados de pesquisas no exterior demonstraram boa eficiência dessa fonte nitrogenada na produção de arroz (TISDALE et al., 1985). Em estudo realizado na cultura do algodão, em solo alcalino, Ashraf et al. (2005) observaram que a aplicação de NH₄Cl reduziu significativamente o pH do solo, aumentou a capacidade de absorção de nutrientes, proporcionando incremento na produtividade e aumento da atividade da enzima redutase do nitrato.

Um fator que deve ser levado em consideração é que, devido ao uso acumulativo de adubo potássico clorado na maior parte das culturas, vem se acentuando o problema, que se constitui no acúmulo de sais na rizosfera, principalmente nas culturas perenes e naquelas cujos restos de cultura voltam ao solo anualmente. Levando-se em consideração que na dose

de 200 kg ha⁻¹ de N na forma de CA corresponde a 520 kg ha⁻¹ de Cl⁻, além de 60 kg ha⁻¹ de Cl⁻ adicionados na forma de cloreto de potássio (levando-se em consideração que a fonte KCl tem 60% de K₂O e a dose aplicada no experimento foi de 90 kg ha⁻¹ de K₂O), a redução na produtividade pode ter ocorrido pelo excesso de Cl⁻, que em elevadas concentrações no solo influenciou negativamente no potencial produtivo da cultura. Como a cana-de-açúcar é considerada, moderadamente sensível à salinidade do solo (SANTANA et al., 2007), o decréscimo de produtividade com aumento da dose de nitrogênio pode ter sido agravado pelo “efeito salino” provocado pelo cloro, tendo em vista, que a acumulação de sais na rizosfera prejudica o crescimento e desenvolvimento das culturas, provocando decréscimo de produtividade. Isto ocorreu, provavelmente, em razão da elevação do potencial osmótico da solução do solo, por efeitos tóxicos de íons específicos e alteração das condições químicas do solo (FAUCONNIER; BASSEREAU, 1975; MAULE et al., 2001). Vieira et al. (2010), avaliaram a resposta da cana-de-açúcar (variedade SP89-1115) à doses de cloreto de amônio (60, 120 e 180 kg ha⁻¹) em LATOSSOLO VERMELHO distrófico e concluíram que houve redução no número de perfilhos, com pequeno aumento na produtividade no primeiro ano de sua aplicação, seguido de queda na produção de colmos e açúcar no ano seguinte, quando foi avaliado o efeito residual dessa fonte.

Figura 5 – Produtividade de colmos de cana-de-açúcar (TCH) e de sacarose (TPH) em função de doses de nitrogênio na forma de cloreto de amônio (N-CA). ***, **: significativos a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. Coeficiente de variação (%): 7,3 e 10,4 para TCH e TPH, respectivamente

A Figura 6 mostra os valores de condutividade elétrica na solução do solo (CE) em duas profundidades aos 60 dias após a adubação. Na profundidade de 0 – 20 cm os valores variaram de 80 a 220 $\mu\text{S cm}^{-1}$ para a maior dose aplicada. Apesar do aumento expressivo nos valores de CE com o aumento das doses de N-CA, estes podem ser considerados baixos. De acordo com Santana et al. (2007) a diminuição do rendimento da cana-de-açúcar pode chegar a 50% em solos com valor de condutividade elétrica de 10,4 dS m^{-1} , no entanto, o solo já é considerado salino quando apresenta condutividade elétrica superior a 4 dS m^{-1} . Vale ressaltar, que no presente experimento a amostragem de solo para a determinação da CE foi realizada 60 d.a.a., tempo suficiente para que a planta absorvesse grande parte dos íon cloreto disponível na solução do solo. Santana et al. (2007) avaliaram em casa de vegetação o efeito de diferentes concentrações de NaCl na água de irrigação (condutividade elétrica variando de 0,1 a 8,0 dS m^{-1}), no desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar, cultivar SP80 1842, cultivada em solos com variados níveis texturais. Os autores constataram redução linear da evapotranspiração (com máxima de 20%) e de massa seca de raiz e parte aérea da cana-de-açúcar em sua fase inicial de desenvolvimento, com o aumento da salinidade da água de irrigação, independente da classe textural.

Souri (2010) compararam o NH_4Cl e KCl ao 3,4-dimetilpirazolfosfato (DMPP) como inibidores de nitrificação em um intervalo de 5 semanas de incubação e verificaram que os tratamentos NH_4Cl e KCl foram os que apresentaram as menores concentrações de N-NO_3^- e maiores concentrações de N-NH_4^+ no solo, assim como verificado no capítulo 4 desta tese. Para as doses avaliadas de KCl (100, 250 e 500 mg kg^{-1}) houve forte inibição da nitrificação do N-NH_4^+ com o aumento das doses. O autor concluiu que o íon cloreto do fertilizante pode suprimir a nitrificação, particularmente quando o adubo é aplicado de forma localizada e esses efeitos têm sido evidenciados por muito pesquisadores (GOLDEN et al, 1980;. DARRAH; NYE; WHITE 1985; DARRAH; NYE; WHITE, 1987; MCGUIRE; LIEU; PEARTHREE 1999). Entretanto, mesmo em baixas concentrações de Cl foi observada a inibição da nitrificação (DARRAH; NYE; WHITE 1987; GOLDEN et al. 1980), o que não parece ser apenas um efeito causado pela elevação do potencial osmótico da solução. Segundo Golden et al. 1980 a elevação do potencial osmótico da solução tem papel secundário nos efeitos nocivos do Cl. De acordo com diversos autores o cloreto pode atuar como um forte agente oxidante e potente biocida (SOURI, 2010; CHEN; WONG, 2004; KANDELER, 1996). Segundo esses autores a ação biocida dos compostos contendo cloro baseia-se na formação do ácido hipocloroso (HClO), que é um agente oxidante extremamente forte, difundindo-se com facilidade através das paredes celulares dos microrganismos, este composto reage com as

proteínas celulares, oxidando pontos ativos de certos grupos orgânicos essenciais à respiração celular (DREW; BROCKLEHURST, 1984; GRAY, 1994).

Figura 6 - Condutividade elétrica do solo em função da aplicação de doses de N-cloreto de amônio nas profundidades de 0-20 (a) e 20-40 cm (b) aos 60 dias após a adubação. ***: significativo a 1% de probabilidade. Coeficiente de variação (%): 4,8 e 6,9 para TCH e TPH, respectivamente

Houve aumento das concentrações de cloro nas folhas diagnósticas com o incremento das doses de N-CA aos 60 d.a.a. (Figura 7). As plantas das parcelas sem a adição de cloreto de amônio (controle) apresentaram elevada concentração de cloro na F+1, sugerindo que o solo utilizado no presente experimento apresentava alto teor de cloro das adubações anteriores, contendo cloro em sua constituição, principalmente pela utilização de KCl. Na dose mais elevada de CA houve aumento de 1000 mg kg⁻¹ de cloro na folha diagnóstica da cana-de-açúcar, quando comparada ao controle. A absorção de cloro pelas plantas é um processo não ativo, ou seja, quanto mais cloro no solo, mais as plantas o absorvem. Altos níveis de cloro na planta impedem a absorção de outros ânions como o nitrato, o sulfato, o fosfato e o boro. Além disso, a entrada de um ânion na planta requer um cátion acompanhante, podendo ocorrer, dessa forma, entrada de metais pesados como Cu⁺² e Zn⁺² em excesso, agravando os distúrbios fisiológicos e causando fitotoxidez. Os sintomas de toxidez por Cl⁻ são mais comuns do que os de deficiência, mas a tolerância também é dependente da espécie. As mais sensíveis podem demonstrar toxidez a partir de um nível de 3.000 mg kg⁻¹ Cl⁻ na massa de matéria seca e as mais tolerantes a partir de um nível de 20.000 mg kg⁻¹ (FURLANI, 2004; MARSCHNER 1995).

Figura 7 - Concentração de cloro na folha +1 de cana-de-açúcar aos 60 dias após a adubação com doses de cloreto de amônio. ***: significativo a 1% de probabilidade. Coeficiente de variação (%): 5,6

O cloro, no entanto, é necessário às reações de fotólise da molécula de água na fotossíntese, produzindo oxigênio (CLARKE; EATON-RYNE, 2000), sendo essencial, também, para a divisão celular (HARLING et al., 1997). Em geral, a maioria das plantas absorve o Cl^- em níveis superiores àqueles necessários ao seu metabolismo. Bar-Tal et al. (1991), afirmam que o teor de nitrogênio nas plantas de milho é afetado pela elevada concentração de sais no solo e a absorção e o transporte do nitrato são limitados, nestas condições, devido ao efeito antagônico existente entre os íons de nitrato e cloro. Os efeitos da acumulação excessiva dos sais solúveis nas plantas podem ser causados pelas dificuldades de absorção de água, induzindo condição de estresse hídrico às plantas, pela toxicidade de íons específicos e pela interferência dos sais nos processos fisiológicos (efeitos indiretos), reduzindo o crescimento e desenvolvimento das plantas. Alguns pesquisadores evidenciaram o efeito negativo dos íons que contribuem para a salinidade do solo (principalmente Na^+ e Cl^-) nos processos fisiológicos importantes para o crescimento das plantas (YAHYA, 1998; BETHKE; DREW, 1992).

Não houve efeito de doses de N-CA na fitomassa seca de raízes e rizomas (Tabela 13). No entanto, a hipótese levantada por Otto et al. (2009) em que elevadas doses de nitrogênio limitariam o desenvolvimento das raízes de cana-de-açúcar próximas aos grânulos de fertilizante, devido a facilidade na obtenção dos nutrientes necessários ao crescimento da parte aérea, com reduzido gasto energético no crescimento das raízes, também é consistente.

O efeito da proliferação de raízes limitada à superfície do solo, em função da aplicação localizada do fertilizante nitrogenado já foi confirmado em estudos com milho, tanto em condições de vaso (ANGHINONI; BARBER, 1988) como em campo (DURIEUX et al., 1994). Em contrapartida, Trivelin et al. (2002) verificaram resposta linear na produtividade de fitomassa seca do sistema radicular da cana-planta em função da aplicação de doses de N-ureia no plantio. Bologna-Campbell (2007) também obteve resposta linear à adição de N na forma de ureia ou sulfato de amônio no plantio na produção de fitomassa seca de raízes e rizomas.

Tabela13 - Produção de fitomassa seca dos compartimentos subterrâneos (0-40 cm) em função de doses de N-cloreto de amônio

Doses N-CA (kg ha ⁻¹)	Raiz	Rizoma	Total
	Mg ha ⁻¹		
0	2,8	1,2	4,0
50	2,3	1,3	3,6
100	2,7	1,0	3,6
200	2,9	1,0	3,8
F-Linear	ns	ns	ns
F- Quad	ns	ns	ns
F – blocos	7,1***	5,1**	8,3***
CV (%)	22,2	37,8	23,0

F-linear: análise de variância da regressão linear; F-quad.: análise de variância da regressão quadrática; ns: não significativo; *** e **: significativos a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente; CV (%): Coeficiente de variação

2.4 Conclusões

Os valores SPAD obtidos com utilização do clorofilômetro N-TESTER foram considerados apropriados para prever o estado nutricional em nitrogênio da cana-de-açúcar.

O cloreto de amônio como uma fonte alternativa de N poderá ser usado, eventualmente, na adubação de cana-de-açúcar, necessitando mais estudos para verificar os efeitos ocasionados pelo uso repetido dessa fonte.

Altas doses de N como cloreto de amônio no cultivo de cana-de-açúcar resultam em decréscimo de produtividade de colmos e açúcar devido aos efeitos causados pelo excesso de cloreto tanto no solo como nas plantas.

Referências

- ABRAMO FILHO, J.; MATSUOKA, S.; SPERANDIO, M.L.; RODRIGUES, R.C.D.; MARCHETTI, L.L. Resíduo da colheita mecanizada de cana crua. **Álcool & Açúcar**, Piracicaba, v. 67, p. 23-25, 1993.
- ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; ANDRADE, J.C. Determinação de cobre, ferro, manganês, zinco, cádmio, cromo, níquel e chumbo em solos usando a solução de DTPA em pH 7. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Ed.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. p. 271-276.
- ABREU, J.B.R.; MONTEIRO, F.A. Produção e nutrição do capim-Marandu em função de adubação nitrogenada e estádios de crescimento. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 56, p. 137-146, 1999.
- ANDRADE, S.R.M. **Efeito da proporção $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ na composição da fração nitrogenada e na atividade das enzimas de redução e assimilação de nitrogênio em plantas de capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq)**. 1994. 49 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias, área de concentração: Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.
- ANGHINONI, I.; BARBER, S.A. Corn root growth and nitrogen uptake as affected by ammonium placement. **Agronomy Journal**, Madison, v. 80, p. 799-802, 1988.
- ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F. da; BORTOLINI, C.G.; FORSTHOFER, E.L.; STRIEDER, M.L. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 158-167, 2001.
- ASHRAF, M.Y.; ALVI, A.K.; SARWAR, G.; QURESHI, M.S.; ASHRAF, M.; HUSSAIN, M. Effect of ammonium chloride on the growth and nutrient uptake by cotton grown in alkaline soil. **Agrochimica**, Paquistão, v. 49, p. 153-164, 2005.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS. **Principais indicadores do setor de fertilizantes**. Disponível em: <<http://www.anda.org.br/index.php?mpg=03.00.00&ver=por>>. Acesso em: 17 mar. 2013.
- AZEREDO, D.F.; BOLSANELLO, J.; WEBWE, H.; VIEIRA, J.R. Nitrogênio em cana-planta - doses e fracionamento. **STAB. Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 4, p. 25-29, 1986.
- BARATI, V.; EMAM, Y.; MAFTOUN, M. Responses of two lowland: rice cultivars to the different sources and levels of nitrogen. **Agrochimica**, Iran, v. 50, p. 158-164, 2006.
- BARNES, A.; HOLE, C.C. A theoretical basis of growth and maintenance respiration. **Annals of Botany**, London, v. 12, p. 1217-221, 1978.

- 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.
- BAR-TAL, A.; FEIGENBAUM, S.; SPARKS, D.L. Potassium salinity interactions in irrigated corn. **Irrigation Science**, Berlin, v. 12, p. 27-35, 1991.
- BEEVERS, L.; SHRADER, L.E.; FLISCHER, D.; HAGEMAN, R.H. The role of light and nitrate in the induction of nitrate reductase in radish cotyledons and maize seedlings. **Plant Physiology**, Rockville, v. 40, p. 691-698, 1969.
- BETHKE, P.C.; DREW, M.C. Stomatal and non-stomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of *Capsicum annuum* during progressive exposure to NaCl salinity. **Plant Physiology**, Rockville, v. 99, p. 219-226, 1992.
- BLACKMER, A.M.; POTTKER, D.; CERRATO, M.E.; WEBB, J. Correlations between soil nitrate concentrations in late spring and corn fields in Iowa. **Journal of Production Agriculture**, Madison, v. 2, p. 103-109, 1989.
- 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.; 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.
- 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”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- BOLTON, J.K.; BROWN, R.H. Photosynthesis of grass species differing in carbon dioxide fixation pathways. V. Response of *Panicum maximum*, *Panicum milioides* and tallfescue (*Festuca arundinacea*) to nitrogen nutrition. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 66, p. 97-100, 1980.
- BROWN, H.M.; HOEFT, R.G.; NAFZIGER, E.D. Evaluation of three N recommendation systems for corn yield and residual soil nitrate. In: ILLINOIS FERTILIZER CONFERENCE, 1993, Urbana-Champaign. **Proceedings...** Urbana-Champaign: University of Illinois, Cooperative Ext. Serv., 1993. p. 43-49.
- BUNDY, L.G.; MALONE, E.S. Effect of residual profile nitrate on corn response to applied nitrogen. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 52, p. 1377-1383, 1988.
- CABRERA, J.A.; ZUAZNÁBAR, R. Respuesta de la caña de azúcar a la fertilización nitrogenada en un experimento de larga duración con 24 cosechas acumuladas. **Cultivos Tropicales**, La Habana, v. 31, p. 93-100, 2010.

CANTARELLA, H. Adubação nitrogenada em sistema de cana crua. **STAB, Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 16, n. 4. p. 21-22, 1998.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C. Nitrogênio e enxofre na culturada cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO SOBRE NITROGÊNIO E ENXOFRE NA AGRICULTURA BRASILEIRA, 2007, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: IPNI, 2007. p.355-392.

CARVALHO, M.A.C.; FURLANI JUNIOR, E.; ARF, O.; SÁ, M.E.; PAULINO, H.B.; BUZETTI, S. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio e teores foliares deste nutriente e de clorofila em feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 445-450, 2003.

CHEN, G.H.; WONG, M.T. Impact of increased chloride concentration on nitrifying activated sludge cultures. **Journal of Environmental Engineering**, Reston, v.130, p. 116–125, 2004.

CLARKE, S.M.; EATON-RYE, J.J. Amino acid deletions in loop C of the chlorophyll a-binding protein CP47 alter the chloride requirement and/or prevent the assembly of photosystem II. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 44, p. 591-601, 2000.

COPERSUCAR. **Nona geração de variedades de cana-de-açúcar Copersucar**. Piracicaba, 2003. 15 p. (Boletim Técnico Copersucar, Edição Especial).

COSTA, C.; DWYER, L.M.; DUTILLEUL, P.; STEWART, D.W.; MA, B.L.; SMITH, L. Interrelationships of applied nitrogen, SPAD, and yield of leafy and non-leafy maize genotypes. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 24, p. 1173-1194, 2001.

COSTA, M.C.G. **Eficiência de fontes nitrogenadas na cultura da cana-de-açúcar em sistema de colheita sem despalha a fogo**. 2001. 79 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

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, 2003.

DARRAH, P.R.; NYE, P.H.; WHITE, R.E. Modelling growth responses of soil nitrifiers to additions of ammonium sulfate and ammonium chloride. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 86, p. 425–439, 1985.

_____. The effect of high solute concentrations on nitrification rates in soil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 97, p. 37–45, 1987.

DATTA, N.; RAO, L.V.M.; GUHA-MUKHERJEE, S.; SOPORY, S.K. Regulation of nitrate reductase activity by ammonium in wheat. **Plant Science Letters**, Amsterdam, v. 20, p. 305-313, 1981.

DELÚ-FILHO, D.N.; OLIVEIRA, L.E.M.; ALVES, J.D. Atividade da redutase do nitrato em plantas jovens de seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell.Arg): Otimização das condições de ensaio e ritmo circadiano. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 21, p. 329- 336, 1998.

DILLEWIJN, C. van. **Botany of sugarcane**. Waltham: Chronica Botanica, 1952. 371 p.

DONATO, V.M.T.S.; ANDRADE, A.G. de; SOUZA, E.S. de; FRANÇA, J.G.E. de; MACIEL, G.A. Atividade enzimática em variedades de cana-de-açúcar cultivadas in vitro sob diferentes níveis de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1087-1093, 2004.

DOURADO-NETO, D.; POWLSON, D.; ABU BAKAR, R.; BACCHI, O.O.S.; BASANTA, M.V.; THI CONG, P.; KEERTHISINGHE, G.; ISMAILI, M.; RAHMAN, S.M.; REICHARDT, K.; SAFWAT, M.S.A.; SANGAKKARA, R.; TIMM, L.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.

DREW, R.L.K.; BROCKLEHURST, P.A. The effect of sodium hypochlorite on germination of lettuce seed at high temperature. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 35, p. 975-985, 1984.

DURIEUX, R.P.; KAMPRATH, E.J.; JACKSON, W.A.; MOLL, R.H. Root distribution of corn: the effect of nitrogen fertilization. **Agronomy Journal**, Madison, v. 86, p. 958-962, 1994.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Produção de informação; Rio de Janeiro: EMBRAPA Solos, 2006. 412 p.

ENGEL, V.L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia**, Londrina, v. 3, p. 39-45, 1991.

ESPIRONELO, 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).

FAO. Disponível em: <<https://www.fao.org.br/>>. Acesso em: 04 mar. 2013.

FARONI, C.E.; TRIVELIN, P.C.O. Quantificação de raízes metabolicamente ativas de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, p. 1007-1013, 2006.

FAUCONNIER, R.; BASSEREAU, D. **La caña de azucar: técnicas agrícolas y producciones tropicales**. Barcelona: Blume, 1975. 433 p.

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

FERNANDES, M.S.; ROSSIELLO, O.P.R. Mineral nitrogen in plant physiology and plant nutrition. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 14, p. 111-148, 1995.

FOX, R.H.; ROTH, G.W.; IVERSEN, K.V.; PIEKIELEK, W.P. Soil and tissue nitrate tests compared for predicting soil nitrogen availability to corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 971–974, 1989.

FRANCO, H.C.J. **Eficiência agronômica da adubação nitrogenada de cana-planta**. 2008. 112 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C.; OTTO, R. Stalk yield and technological attributes of planted cane as related to nitrogen fertilization. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, p. 579-590, 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. 121, p. 29-41, 2011.

FREITAS, J.G.; CAMARGO, C.E.O.; FERREIRA FILHO, A.W.P.; TULMANN NETO, A.; PETTINELLI JUNIOR, A.; CASTRO, J.L. Produtividade e resposta de genótipos de trigo ao nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v. 53, p. 281-290, 1994.

FURLANI NETO, V.L.; RIPOLI, T.C.; VILLA NOVA, N.A. Biomassa de cana-de-açúcar: energia contida no palhço remanescente de colheita mecânica. **STAB, Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 15, n. 4, p. 24-27, 1997.

FURLANI, A.M.C. Nutrição mineral. In: KERBAUY, G.B. (Org.). **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro, 2004. p. 1-452.

GEE, G.W.; BAUDER, J.W. 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).

GOLDEN, D.C.; SIVASUBRAMANIAM, S.; SANDANAM, S.; WIJEDASA, M.A. Inhibitory effects of commercial potassium chloride on the nitrification rates of added ammonium sulfate in an acid red yellow podzolic soil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 59, p. 147–151, 1980.

GRAY, N.F. **Calidad del agua potable**. Zaragoza: Acribia, 1994. 365p.

GUIMARÃES, A.C.R. **Caracterização de variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) submetidas a déficit hídrico**. 2011. 66 p. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

GUIMARÃES, T.G.; FONTES, P.C.R.; PEREIRA, P.R.G. Teores de clorofila determinados por medidor portátil e sua relação com formas de nitrogênio em folhas de tomateiro cultivados em dois tipos de solos. **Bragantia**, Campinas, v. 58, p. 209-216, 1999.

HARLING, H.; CZAJA, L.; SCHELL, J.; WALDEN, R. A plant cation-chloride co-transporter promoting auxin-independent tobacco protoplast division. **EMBO Journal**, Oxford, v. 16, p. 5855- 5866, 1997.

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.

HUSSAIN, F.; BRONSON, K.F.; YADVINDER-SINGH, B.S.; PENG, S. Use of chlorophyll meter sufficiency indices for nitrogen management of irrigated rice in Asia. **Agronomy Journal**, Madison, v. 92, p. 875-879, 2000.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. **CANASAT**. Disponível em: <www.dsr.inpe.br/canasat>. Acesso em: 10 mar. 2013.

Kölln, O.T. **Interação entre os estresses de nitrogênio e disponibilidade hídrica no fracionamento isotópico de ^{13}C e na produtividade em soqueira de cana-de-açúcar**. 2012. 102 p. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

KAISER, W.M.; HUBER, S.C. Posttranslational regulation of nitrate reductase in higher plants. **Plant Physiology**, Palo Alto, v. 106, p. 817-821, 1994.

KANDELER, F.; KAMPICHLER, C.; HORAK, O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 23, p. 299–306, 1996.

KORNDÖRFER, G.H.; COLOMBO, C.A.; CHIMELLO, M.A.; LEONI, P.L.C. Desempenho de variedades de cana-de-açúcar cultivadas com e sem nitrogênio. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE DOS TÉCNICOS AÇÚCAREIROS E ALCOOLEIROS DO BRASIL., 8., 2002, Recife. **Anais...** Piracicaba: STAB, 2002. p. 234-238.

LA HABA, P.; AGUERA, E.; MALDONADO, J.M. Development of nitrogen assimilation enzymes in sunflower cotyledons during germination as affected by the exogenous nitrogen source. **Planta**, New York, v. 173, p. 52-57, 1988.

LARA CABEZAS, W.A.R.; YAMADA, T. Uréia aplicada na superfície do solo: um péssimo negócio! **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 86, p. 9-10, 1999.

LAVRES, J.; SANTOS, J.D.G.; MONTEIRO, F.A. Nitrate reductase activity and SPAD readings in leaf tissues of guinea grass submitted to nitrogen and potassium rates. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, p. 801-809, 2010.

LEA, P.J. Primary nitrogen metabolism. **Plant Biochemistry**, New York, v. 7, p. 273-313, 1997.

LI, X.Z.; OAKS, A. Induction and turnover of nitrate reductase in *Zea mays*. **Plant Physiology**, Palo Alto, v. 102, p. 1251-1257, 1993.

LÓPEZ-BELLIDO, L.; LÓPEZ-BELLIDO, R.J.; LÓPEZ-BELLIDO, F.J. Fertilizer nitrogen efficiency in durum wheat under rainfed Mediterranean conditions. **Agronomy Journal**, Madison, v. 98, p. 55-62, 2006.

LORY, J.A.; SCHARF, P.C. Yield goal versus delta yield for predicting fertilizer nitrogen need in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 95, p. 994-999, 2003.

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

MARIANO, E. **Mineralização e disponibilidade de nitrogênio em solos cultivados com cana-de-açúcar**. 2010. 92 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1986. 674 p.

_____. **Mineral nutrition of higher plants**. 2nd ed. London, Academic Press, 1995. 889 p.

MAULE, R.F.; MAZZA, A.J.; MARTHAR JÚNIOR, G.B. Produtividade agrícola de cultivares de cana-de-açúcar em diferentes solos e épocas de colheita. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, p. 295-301, 2001.

MCGUIRE, M.J.; LIEU, N.I.; PEARTHREE, M.S. Using chlorite ion to control nitrification. **Journal of the American Water Works Association**, New York, v. 91, p. 52-61, 1999.

MEGURO, N.E.; MAGALHÃES, A.C. Atividade da redutase de nitrato em cultivares de café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, p. 249-257, 1982.

MEISINGER, J.J.; BANDEL, V.A.; ANGLE, J.S.; O'KEEFE, B.E.; REYNOLDS, C.M. Presidedress soil nitrate test evaluation in Mary-land. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 56, p. 1527-1532, 1992.

MINOLTA CAMARA. **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.

MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A. Diffusion methods to determine different forms of nitrogen in soil hydrolysates. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 1284-1292, 2001.

NAMBIAR, P.T.C.; REGO, T.J.; RAO, B.S. Nitrate concentration and nitrate reductase activity in the leaves of three legumes and three cereals. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 112, p. 547-553, 1988.

NEVES, O.S.C.; CARVALHO, J.G. de; MARTINS, F.A.D.; PÁDUA, T.R.P. de; PINHO, P.J. de. Uso do SPAD-502 na avaliação dos teores foliares de clorofila, nitrogênio, enxofre, ferro e manganês do algodoeiro herbáceo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, p. 517-521, 2005.

NOVOA, R.; LOOMIS, R.S. Nitrogen and plant production. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 58, p. 177-204, 1981.

OAKS, A. Primary nitrogen assimilation in higher plants and its regulation. **Canadian Journal of Botany**, Ontario, v. 72, p. 739-750, 1994.

OAKS, A.; POULLE, M.; GOODFELLOW, V. J.; CASS, L. A.; DEISING, H. The role of nitrate and ammonium ions and light on the induction of nitrate reductase in maize leaves. **Plant Physiology**, Rockville, v. 88, p. 1067-1072, 1982.

OLSON, R.V.; MURPHY, L.S.; MOSER, H.C.; SWALLOW, C.W. Fate of tagged fertilizer nitrogen applied to winter wheat. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 43, p. 973-975, 1979.

OMAY, A.B.; RICE, C.W.; MADDUX, L.D. GORDON, W.B. Corn yield and nitrogen uptake in monoculture and in rotation with soybean. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 62, p. 1596-1603, 1998.

OSCARSON, P.; INGEMARSSON, B.; AF UGGLAS, M.; LARSSON, C-M. Shortterm studies of NO_3^- uptake in *Pisum sativum* using $^{13}\text{NO}_3^-$. **Planta**, New York, v. 170, p. 550-555, 1987.

OTTO, R. **Desenvolvimento radicular e produtividade da cana-de-açúcar relacionados à mineralização do N do solo e à adubação nitrogenada**. 2012. 117 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

OTTO, R.; TRIVELIN, P.C.O.; FRANCO, H.C.J; FARONI, C.E.; VITTI, A.C. Root system distribution of sugar cane related to nitrogen fertilization, evaluated by two methods: monolith and probes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 601-611, 2009.

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

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

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H. Outras culturas industriais. 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. cap. 22, p. 233-243. (IAC. Boletim, 100).

REMMLER, J.L.; CAMPBELL, W.H. Regulation of corn leaf nitrate reductase. II. Synthesis and turnover of the enzyme.s activity and protein. **Plant Physiology**, Rockville, v. 80, p. 442-447, 1986.

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.

ROLIM, G.S.; SENTELHAS, P.C.; BARBIERI, V. Planilhas no ambiente EXCEL™ para os cálculos de balanços hídricos: normal, sequencial, de cultura e de produtividade real e potencial. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 6, p. 133-137, 1998.

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. **Proceeding International Society Sugar Cane Technology**, Veracruz, v. 27, p. 1-8, 2010.

ROTH, G.W.; FOX, R.H. Soil nitrate accumulations following nitrogen-fertilized corn in Pennsylvania. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 19, p. 243–248, 1990.

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

SANTANA, M.J.; CARVALHO, J.A.; SOUZA, K.J.; SOUSA, A.M.G.; VASCONCELOS, C.L.; ANDRADE, L.A.B. Efeitos da salinidade da água de irrigação na brotação e desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) e em solos com diferentes níveis texturais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p. 1470-1476, 2007.

SAS INSTITUTE. **Propriety software release 6.11**. Cary, 1996.

SCHINDLER, F.V.; KNIGHTON, R.E. Fate of fertilizer nitrogen applied to corn as estimated by the isotopic and difference methods. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 63, p. 1734–1740, 1999.

SCHMITT, M.A.; RANDALL, G.W. Developing a soil nitrogen test for improved recommendations for corn. **Journal of Production Agriculture**, Madison, v. 7, p. 328–334, 1994.

SECHLEY, K.A.; YAMAYA, T.; OAKS, A. Compartmentation of nitrogen assimilation in higher plants. **International Review of Cytology**, New York, v. 134, p. 85-163, 1992.

SEIFERMAN-HARMS, D. The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. **Physiology Plantarum**, Malden, v. 69, p. 561-568, 1987.

SIHAG, R.K.; GUHA-MUKHERJEE, S.; SOPORY, S.K. Effect of ammonium, sucrose and light on the regulation of nitrate reductase level in *Pisum sativum*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 45, p. 281-287, 1979.

SILVA, E.C.; MURAOKA, T.; BUZETTI, S.; TRIVELIN, P.C.O. Manejo de nitrogênio no milho sob plantio direto com diferentes plantas de cobertura, em Latossolo Vermelho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, p. 477-486, 2006.

SILVA, M.A.; JIFON, J.L.; Da SILVA, J.A.G.; SHARMA, V. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 19, p. 193-201, 2007.

SOIL SURVEY STAFF. **Keys to soil taxonomy**. 11th ed. Washington: USDA, Natural Resources Conservation Service, 2010. 344 p.

SORATTO, R.P.; CARVALHO, M.A.C.; ARF, O. Teor de clorofila e produtividade do feijoeiro em razão da adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 895-901, 2004.

SOURI, M.K. Effectiveness of chloride compared to 3,4-dimethylpyrazole phosphate on nitrification inhibition in soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 41, p. 1769-1778, 2010.

SRIVASTAVA, H.S. Regulation of nitrate reductase activity in higher plants. **Phytochemistry**, Elmsford, v. 19, p. 725-733, 1980.

_____. Regulation of nitrate reductase activity in higher plants. **Phytochemistry**, New York, v. 19, p. 725-733, 1990.

STEVENS, W.B.; HOEFT, R.G.; MULVANEY, R.L. Fate of nitrogen-15 in a long term nitrogen rate study: I. Interactions with soil nitrogen. **Agronomy Journal**, Madison, v. 97, p. 1037-1045, 2005.

STTIT, M.; KRAPPP, A. The interaction between elevated carbon dioxide and nitrogen nutrition: the physiology and molecular background. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 22, p. 583-621, 1999.

TAKAHASHI, D.T. N¹⁵-nitrogen field studies with sugarcane. **Hawaiian Planters Record**, Honolulu, v. 57, p. 198-222, 1964.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: UFRGS, Departamento de Solos, 1995. 174 p. (Boletim Técnico, 5).

THORBURN, P.J.; DART, I.K.; BIGGS, I.M.; BAILLIE, C.P.; SMITH, M.A.; KEATING, B.A. The fate of nitrogen applied to sugarcane by trickle irrigation. **Irrigation Science**, Berlin, v. 22, p. 201- 209, 2003.

TISDALE, S.L.; NELSON, W.L.; BEATON, J.D. Soil and fertilizer nitrogen. In: _____. **Soil fertility and fertilizer**. New York: Macmillan, 1985. p. 112-188.

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. 636-646, 2002.

TRIVELIN, P.C.O.; STEFANUTTI, R.; LIMA FILHO, O.F.; TZIBOY, E.A.T.; OLIVEIRA, J.A.; BENDASSOLLI, J.A. Volatilização de amônia do solo associada à aplicação superficial de solução nitrogenada com uréia e nitrato de amônio. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DO SOLO, 13., 1996, Águas de Lindóia. **Anais...Águas de Lindóia**: SLACS, 1996. 1 CD-ROM.

UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/unica-na-midia/36949486920338415501/justica-antecipa-fim-de-queima-da-cana-em-sp/>>. Acesso em: 05 mar. 2013.

VALLIS, I.; PARTON, W.J.; KEATING, B.A.; WOOD, A.W. Simulation of the effects of trash and N fertilizer management on soil organic matter levels and yields of sugarcane. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 38, p. 115-132, 1996.

VENKATESAN, S.; GANAPATHY, M.N.K. Nitrate reductase activity in tea as influenced by various levels of nitrogen and potassium fertilizers. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 35, p. 1283-1291, 2004.

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

VIEIRA-MEGDA, M.X.; TRIVELIN, P.C.O.; FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; VITTI, A.C. Eficiência agrônômica de adubos nitrogenados em soqueira de cana-de-açúcar colhida sem queima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, p. 1681-1690, 2012.

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

VON ELBE J.H. Colorantes. In: FENNEMA, O.W. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Editora Acribia, 2000. cap. 10, p. 782-799.

WELLBURN, A.R. The spectral determination of chlorophylls 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.

WILSON JUNIOR, C.E.; NORMAN, R.J.; WELLS, B.R. Seasonal uptake patterns of fertilizer nitrogen applied in split applications to rice. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 53, p. 1884-1887, 1989.

YAHYA, A. Salinity effects on growth and on uptake and distribution of sodium and some essential mineral nutrients in sesame. **Journal Plant Nutrition**, New York, v. 21, p. 1439-1451, 1998.

3 CONTRIBUIÇÃO DO N DO FERTILIZANTE NO TOTAL EXTRAÍDO PELA CANA-DE-AÇÚCAR DURANTE O CICLO AGRÍCOLA DE PRIMEIRA REBROTA

Resumo

Estudos relacionados à quantificação do nitrogênio proveniente do fertilizante bem como da efetiva contribuição do N nativo do solo na nutrição mineral das plantas, são determinantes para o melhor entendimento dos processos relacionados à eficiência de uso do N. A utilização do método do traçador com o isótopo estável ^{15}N permite avaliar as transformações individuais do N no solo, mesmo quando múltiplas transformações ocorrem simultaneamente. Com o objetivo de avaliar a contribuição do N proveniente do fertilizante nos compartimentos de cana-de-açúcar e no total de N extraído pelas plantas durante o ciclo de primeira soqueira, foram instaladas microparcelas com aplicação de N-ureia, N-sulfato de amônio e N-cloreto de amônio marcadas no isótopo de ^{15}N (3% em átomos de ^{15}N) na dose de 100 kg ha^{-1} de N. O cultivar de cana-de-açúcar utilizado foi o SP89-1115 e o solo do estudo classificado como Latossolo Vermelho distrófico. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com quatro repetições. O método de utilização da folha +3 de cana-de-açúcar mostrou-se confiável na estimativa do N na planta proveniente do fertilizante durante o ciclo da cultura. As fontes de N apresentaram a mesma eficiência, tendo em vista que o N proveniente do fertilizante na parte aérea da cultura não diferiu entre as fontes. O tratamento cloreto de amônio foi o que apresentou maior acúmulo de N-fertilizante nos colmos aos 218 dias após a adubação. A porcentagem de N-fertilizante foi da ordem de 60% nos estádios iniciais, decaindo para aproximadamente 20% próximo à fase de maturação. A participação do N-fertilizante no total de N extraído pela cultura na colheita foi de 21% nos colmos, 19% nos ponteiros e 17% na folha seca.

Palavras-chave: *Saccharum* spp; % de recuperação do N; Fontes de N; Cloreto de amônio; Técnica isotópica

Abstract

Studies to quantify nitrogen from fertilizer and the effective contribution of native soil N to the mineral nutrition of plants are crucial for the better understanding of processes related to N use efficiency. The use of ^{15}N isotope tracer method allows the evaluation of individual transformations N soil, even when multiple transformations occur simultaneously. Aiming to evaluate the contribution of N derived from fertilizer in the compartments of cane sugar and total N extracted by plants during the first ratoon cycle, microplots were installed with application of urea-N, N-ammonium sulfate and N-labeled ammonium chloride in the ^{15}N isotope (3 atom % ^{15}N) and applied at the N rate of 100 kg ha^{-1} N. The experimental design was a randomized block design with four replications. In the experiment was used SP89-1115 cultivar and the soil classified as Typic Hapludox. The leaf +3 method was effective to estimate N derived from fertilizer during the sugarcane crop cycle. The N sources showed the same efficiency, considering that the N from fertilizer in shoot culture did not differ between sources. Ammonium chloride treatment showed the greatest accumulation of N-fertilizer in the stalks to 218 days after fertilization. The percentage of N-fertilizer was approximately 60% in the early stages, declining to about 20% near of maturation stage. The participation of N-fertilizer on total N extracted by the crop at harvest was 21% in stalks, 19% in tips and 17% in dry leaves.

Keywords: *Saccharum* spp; % N-recovery; N sources; Ammonium chloride; Isotope technique

3.1 Introdução

A manutenção dos restos culturais de cana-de-açúcar no solo, com a prática da colheita sem queima prévia, apresenta vantagens, sobretudo do ponto de vista conservacionista, sendo fundamental para a melhoria dos atributos físicos, químicos e biológicos e, conseqüentemente da fertilidade do solo, comparativamente ao sistema com queima (Cantarella, 1998, Dourado-Neto et al., 2010; Fortes et al, 2011). No entanto, a cobertura do solo com resíduos culturais é um fator que influencia de modo direto nas transformações do N no sistema solo-planta-atmosfera (RAUN; JOHNSON, 1999; TILMAN et al., 2002; THORBURN et al., 2005; CHIEN et al, 2009; MARIANO et al., 2013).

Com relação ao manejo da adubação de cana-de-açúcar, a maior limitação está no uso do nitrogênio em soqueiras. A presença de quantidade significativa de palha cobrindo o solo, no caso da cana-de-açúcar colhida mecanicamente sem queima, dificulta a incorporação de fertilizantes ao solo, exigindo modificações no manejo da fertilização nitrogenada. Além do fator econômico, a aplicação do fertilizante com N na agricultura causa preocupações de caráter ambiental e ligados a saúde pública, já que de forma geral, menos de 40% do N-fertilizante aplicado é aproveitado pela cultura (KINGSTON et al., 2008; MEYER et al., 2007; FRANCO et al., 2008, FRANCO et al. 2011), estando grande parte desse nutriente sujeito a perdas para a atmosfera na forma de gás amônia (NH_3) e óxido nitroso (N_2O) (MARIANO et al., 2012).

No Estado de São Paulo, a palhada de cana-de-açúcar que permanece sobre o solo após o corte varia de 10 a 20 Mg ha⁻¹ de fitomassa seca (FRANCO et al., 2008; FRANCO et al., 2011; FORTES et al., 2011). A adubação com N em superfície nesses solos leva à imobilização do nutriente devido à elevada relação C:N da palha (GAVA, 1999), sendo a mineralização dessa massa vegetal dependente de fatores ambientais como a temperatura, umidade, aeração e, principalmente, da composição química da palhada, especialmente da relação C/N, teores de lignina, celulose, hemicelulose e polifenóis (NG KEE KWONG et al., 1987; SIQUEIRA; FRANCO, 1988). A palhada de cana-de-açúcar deixada sobre o solo possui, em média, 390 a 450 g kg⁻¹ de carbono e 5 a 7 g kg⁻¹ de nitrogênio (TRIVELIN et al., 1995), dessa forma, esse resto cultural deve apresentar pequena mineralização líquida no período de um ano agrícola (GAVA et al., 2002; OTTO et al., 2013).

Como outro problema, tem-se que a ureia é a fonte nitrogenada mais utilizada na cultura da cana-de-açúcar e, quando aplicada sobre a palha, apresenta elevadas taxas de perda de N por volatilização de NH_3 , devido, principalmente, à ação da urease do solo e da própria palhada (CANTARELLA et al., 2008; MARIANO et al., 2013). Lara Cabezas e Yamada (1999) registraram perdas de N por volatilização de NH_3 da ureia acima de 30% em plantio convencional (aplicação superficial no solo) e acima de 70% em plantio direto (aplicação na superfície da palha), em Latossolo Vermelho Amarelo (arenoso) e Latossolo Vermelho Escuro, respectivamente.

A matéria orgânica nativa do solo é comprovadamente o principal reservatório de N para as plantas (SALCEDO et al., 1985; FRANCO et al., 2008; OTTO et al., 2013). Do nitrogênio total na superfície dos solos agrícolas, mais de 90% encontra-se em combinações orgânicas (YAMADA; ABDALLA, 2000). Os complexos orgânicos, tais como o ácido húmico, acumulam-se no solo devido ao seu elevado grau de recalcitrância e resistência ao ataque microbiano, existindo uma série de outros fatores que controlam a cinética de transformação da matéria orgânica em N-inorgânico (JANZEN; KUCEY, 1988; CASSMAN; MUNNS, 1980). O fertilizante nitrogenado aplicado ao solo estará, também, envolvido nas várias reações do N no solo. Por isso, na prática, é difícil determinar a quantidade exata de N que a cana-de-açúcar necessita para atingir a produção máxima econômica, pois sua disponibilidade no solo varia com as mudanças do teor de umidade e temperatura, tipo de fertilizante, ocorrência de doenças, pragas e plantas daninhas e práticas de manejo da cultura. A aplicação do N-fertilizante altera a quantidade do nitrogênio disponível no solo, favorecendo a mineralização da matéria orgânica existente, com conseqüente aumento do N disponível para as plantas (MALAVOLTA et al., 1997; MARIANO et al., 2013).

Em função das inúmeras transformações, especialmente de natureza biológica, a que o nitrogênio está sujeito, ele é um dos nutrientes de mais difícil manejo no solo, sendo que muitas dessas transformações podem levar à redução significativa da disponibilidade do N-fertilizante aos vegetais. Dessa forma, para a adubação nitrogenada de soqueiras colhidas sem queima, constata-se a necessidade de uso de fontes nitrogenadas que apresentem maior eficiência de utilização e menores perdas por volatilização, pois, com presença da palhada, há dificuldade de incorporação do adubo nitrogenado.

Com o intuito de entender mais detalhadamente o ciclo do N no sistema solo-planta e a sua contribuição para a nutrição e produtividade da cana-de-açúcar no Brasil, iniciou-se em 1983, o desenvolvimento de pesquisas com o uso do método do traçador isotópico estável ^{15}N , no Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da Universidade de São Paulo

(TRIVELIN, 2000). Essa metodologia de pesquisa possibilita monitorar no tempo, as taxas de transferência do isótopo nos diferentes compartimentos do sistema solo-planta-atmosfera, de forma quantitativa e qualitativa, podendo ser empregada em estudos quando as técnicas clássicas são insuficientes para o entendimento e quantificação de processos no ciclo do N (FRANCO et al., 2011).

Objetivou-se com este trabalho estimar o N na planta proveniente do fertilizante durante o ciclo da primeira soqueira de cana-de-açúcar e a sua contribuição no total de N extraído pela cultura. O trabalho também objetivou avaliar se a folha +3 de plantas de cana-de-açúcar que receberam fertilizante marcado no isótopo ^{15}N representa a abundância média de ^{15}N da parte aérea da cultura.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Localização e histórico da área experimental

O experimento foi conduzido em condições de campo, em área comercial de cana-de-açúcar de primeira soqueira durante a safra agrícola 2009/2010. A área experimental encontra-se localizada na região de Piracicaba/SP (latitude Sul de 22°35'', longitude Oeste de 47°37'' e altitude predominante de 619 m). O cultivar de cana-de-açúcar utilizado foi o SP89-1115, caracterizado pela alta produtividade e ótima brotação de soqueira (inclusive sob a palha), além da precocidade e alto teor de sacarose. O cultivar é recomendado para colheita até o meio da safra (abril a julho), respondendo positivamente à melhoria dos ambientes de produção. Apresenta hábito semi-ereto e baixa fibra; floresce frequentemente, porém com pouca isoporização. Mostrou-se resistente ao carvão, mosaico, ferrugem marrom (*Puccinia melanocephala*), escaldadura e amarelecimento, sendo suscetível à broca e a ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehnii*) (COPERSUCAR, 2003).

As principais operações realizadas no preparo do solo antes do plantio foram: gradeação pesada para eliminar a soqueira antiga; subsolagem para atenuar os efeitos causados pela compactação do solo; gradeação pesada para incorporação de corretivos (2 Mg ha⁻¹ de calcário dolomítico e 2 Mg ha⁻¹ de gesso agrícola) e gradeação média para o preparo final do solo antes da sulcação. A cana-de-açúcar desta área vem sendo cultivada sucessivamente há pelo menos 30 anos, com longo histórico de corte manual e com queima prévia do canavial, sendo a colheita mecanizada da cultura sem queima das folhas e ponteiros adotada um ano antes da instalação do experimento.

3.2.2 Caracterização do solo e plantio da cana-de-açúcar

O solo da área experimental foi classificado como Latossolo Vermelho distrófico (LVd) (EMBRAPA, 2006), referente ao Typic Hapludox segundo classificação americana (SOIL SURVEY STAFF, 2010). Os atributos químicos das amostras de terra coletadas a 20 cm do centro da linha de cana-de-açúcar (Tabela 1), até 1 m de profundidade antes da instalação do experimento foram analisados segundo as metodologias: pH - CaCl_2 0,01 mol L⁻¹; carbono orgânico total (COT)– método colorimétrico; fósforo – extração por resina trocadora de íons e determinação por colorimetria; potássio – extração por resina trocadora de íons e determinação por fotometria de chama (RAIJ et al., 2001); enxofre – NH_4 OAc 0,5N em HOAc 0,25N (VITTI, 1989); cálcio e magnésio – extração por resina trocadora de íons e determinação por espectrometria de absorção atômica; H+Al – determinação por potenciometria em solução tampão SMP (RAIJ et al., 2001).

O plantio da cana-de-açúcar (cultivar SP89-1115) foi realizado em 8 de março de 2008, em linhas (sulcos) espaçadas por 1,5 m. A cana-planta foi colhida mecanicamente sem despalha a fogo em 15 de junho de 2009 e os resíduos culturais (ponteiros, folhas e pedaços de colmos) depositados na superfície do terreno. A massa de matéria seca da palhada deixada no campo (17,2 Mg ha⁻¹ antes da instalação do experimento em 2009 e 11,1 Mg ha⁻¹ após a colheita da cana-de-açúcar em 2010) foi obtida por meio de amostragens realizadas mediante o uso de gabarito com 1m², em local escolhido ao acaso, coletando-se toda palha presente na área de amostragem. Foram realizadas 20 amostragens, sendo constituídas amostras compostas de cinco repetições. As concentrações de macronutrientes na palhada residual antes da instalação do experimento foram realizadas segundo Malavolta et al (1997) e os valores encontrados para N, P, K, Ca, Mg e S foram 3,0; 1,0; 4,4; 2,3; 0,8; 3,2 g kg⁻¹, respectivamente.

Tabela 1- Caracterização química do solo antes da adubação

Camada	COT	pH	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	V	m
cm	g dm ⁻³	CaCl ₂	mg dm ⁻³	mmol _c kg ⁻¹							—%	
0 – 20	23	4,6	29	4,3	13	6	5	72	23,3	95,3	24	18
20 – 40	19	4,6	29	4,6	29	12	5	80	45,6	125,6	36	10
40 – 60	19	4,3	5	4,9	13	8	11	98	25,9	123,9	21	30
60 – 80	14	4,1	2	5,5	8	6	13	98	19,5	117,5	17	40
80 -100	13	4,2	1	4	9	8	13	88	21	109	19	38

COT: carbono orgânico total

3.2.3 Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com quatro repetições, três tratamentos, e uma parcela controle (sem aplicação de N-mineral). Os fertilizantes nitrogenados: sulfato de amônio (SA), cloreto de amônio (CA) e ureia (U) na dose de 100 kg ha⁻¹ de N foram aplicados manualmente sobre a superfície da palha residual da cana-de-açúcar, distante 20 cm da linha da cultura, aos 130 dias após a colheita da cana-planta (28 de setembro de 2009). Adicionalmente ao N, aplicaram-se em todos os tratamentos 90 kg ha⁻¹ de K₂O, na forma de cloreto de potássio, conforme recomendações de Espironelo et al. (1997). No interior de cada parcela instalou-se uma microparcela, com dimensão de 2 m de comprimento e 1,5 m de largura, totalizando 3 m², que recebeu o fertilizante marcado com ¹⁵N (3% em átomos de ¹⁵N).

3.2.4 Estimativa do acúmulo de fitomassa seca da parte aérea e de raízes

Para avaliar a produção de fitomassa seca da parte aérea da cana-de-açúcar (colmo, folha seca e ponteiro) durante o ciclo da cultura foram contados e colhidos os perfilhos em dois metros de sulco, mensurando-se em seguida a massa de todo o material vegetal colhido, obtendo-se a massa média de um perfilho por parcela (sendo 1 amostragem por parcela). Posteriormente, fez-se, também, a contagem de perfilhos em 15 m de linha de soqueira, de cada parcela (três segmentos de 5 m). Em seguida fez-se a relação com o número de perfilhos em um hectare, considerado o número de perfilhos em 15 m. Considerando o espaçamento de 1,5 m nas entrelinhas, a produtividade de colmo (Mg ha⁻¹) foi calculada multiplicando o número de perfilhos em um hectare (estimado em 15 m de linha) pela massa média de um perfilho (estimado em 2 m de linha). Essa relação faz-se necessária devido à variabilidade de número de perfilhos que normalmente ocorre no canavial. As avaliações foram realizadas em 17 de novembro de 2009 (44 dias após a adubação - d.a.a.), 15 de dezembro de 2009 (73 d.a.a.), 10 de fevereiro de 2010 (130 d.a.a.) e 25 de maio de 2010 (218 d.a.a.), totalizando quatro amostragens.

A amostragem do sistema radicular foi realizada segundo Faroni e Trivelin (2006). Para a amostragem de raízes foi utilizado sonda em aço inox, com 0,055 m de diâmetro interno, até a profundidade de 0,4 m (uma amostra por parcela). Foram coletadas duas amostras sobre a linha de cana-de-açúcar (a 3,75 cm do centro da linha), que posteriormente tornaram-se uma amostra composta; e de cada lado da linha (nas entrelinhas), foi coletada uma amostra a 0,3m

(compondo 1 amostra composta) e uma amostra a 0,6m (compondo 1 amostra composta), totalizando seis amostragens. A separação das raízes foi realizada no campo, utilizando peneiras com malha de 2 mm e no laboratório as amostras de raízes foram lavadas em água corrente e desionizada sobre peneiras com malha de 1 mm, e pesadas antes e após secagem em estufa a 65° C durante 72 h, para quantificação da umidade.

Após a pesagem, as amostras de material vegetal fresco colhidas em 2 metros de sulco foram trituradas em picadoras, coletando-se em seguida subamostras de material vegetal, as quais foram acondicionadas em sacos plásticos hermeticamente fechados. Essas subamostras foram levadas para o laboratório e pesadas em balança analítica (precisão de 0,01g), antes e após a secagem em estufa ventilada a 65°C, procedendo-se, dessa forma a correção da umidade do material vegetal colhido em campo.

3.2.5 Recuperação do N derivado do fertilizante durante o ciclo agrícola da cultura

Nas mesmas épocas das amostragens da parte aérea da cana-de-açúcar foram coletadas amostras de folhas +3 (F+3) nas microparcelsas que receberam adubações com as fontes de N marcadas no isótopo ^{15}N segundo metodologia descrita por Trivelin et al. (1994). Essas amostragens foram realizadas com o objetivo de estimar o nitrogênio na planta proveniente do fertilizante (NPPF) na parte aérea da cana-de-açúcar. A F+3, identificada com base no sistema Kuijper de descrição das folhas da cana-de-açúcar (DILLEWIJN, 1952) é o órgão que representa a abundância média de ^{15}N na planta de cana-de-açúcar. Nessas amostragens coletou-se duas folhas +3 no centro de cada microparcela, que constituíram uma amostra. Adicionalmente, coletaram-se duas folhas +3 nas linhas adjacentes, em posições contíguas às microparcelsas, que juntas constituíram outra amostra, excluindo-se a nervura central. Essas amostras foram secas em estufas de circulação forçada de ar a 65°C e, posteriormente moídas em moinho de facas (tipo Willey), sendo determinadas as abundâncias de ^{15}N (% em átomos de ^{15}N) em espectrômetro de massas HYDRA modelo 20/20, acoplado a um analisador automático ANCA-GSL, da Sercon Co., UK. Com os valores de abundância em átomos % de ^{15}N da folha +3 e as quantidades de N acumuladas na parte aérea da cana-de-açúcar, realizou-se os cálculos de NPPF (nitrogênio na parte aérea da planta proveniente do fertilizante) expressos em kg ha^{-1} . Os resultados foram obtidos por meio das equações apresentadas abaixo.

$$\text{NPPF}(\%) = [(a - b)/(c - b)] \cdot 100$$

$$\text{NPPF}_{\text{LC}}(\text{kg ha}^{-1}) = (\text{NPPF}_{\text{LC}}(\%)/100) \cdot \text{N-total}$$

$$\text{NPPF}_{\text{LA}}(\text{kg ha}^{-1}) = 2 \cdot (\text{NPPF}_{\text{LA}}(\%)/100) \cdot \text{N-total}$$

$$\text{NPPF Total}(\text{kg ha}^{-1}) = \text{NPPF}_{\text{LC}}(\text{kg ha}^{-1}) + \text{NPPF}_{\text{LA}}(\text{kg ha}^{-1})$$

Significando: NPPF – nitrogênio na parte aérea da planta proveniente do fertilizante; a – abundância em átomos de ^{15}N na planta; b – abundância em átomos de ^{15}N no fertilizante; c – abundância natural em átomos de ^{15}N (0,366%); N-total – nitrogênio total da parte aérea em kg ha^{-1} ; LA e LC significam linha adjacente e central com aplicação de ^{15}N -fertilizante respectivamente.

A colheita final da parte aérea das plantas das microparcelas foi realizada em maio de 2010 (233 d.a.a.), manualmente em 3m de linha, na linha central (1m de linha) e em posições contíguas nas linhas adjacentes à microparcela (1m para cada linha), separando-se amostras de folhas secas, ponteiros e colmos. Nessas amostras, foram determinada a massa de material vegetal natural em campo e todo o material foi triturado em picadora mecânica de forragem. Depois da moagem e homogeneização de cada amostra úmida, foi retirada uma subamostra que foi seca em estufa (65 °C), sendo determinada a umidade desse material. O material seco foi moído em moinho Willey e usado para determinações de N-total e da abundância de ^{15}N (% em átomos de ^{15}N). O tratamento sem adição de N, também foi analisado por espectrometria de massas, para determinar a concentração isotópica natural média de ^{15}N . Com os resultados de abundância isotópica das amostras (% em átomos de ^{15}N) da parte aérea e de raízes, obtidos durante o ciclo da cultura e na colheita, foram calculadas as quantidades do nitrogênio na planta proveniente do fertilizante (NPPF) em kg ha^{-1} , segundo Trivelin et al. (1994).

3.2.6 Balanço hídrico climatológico e análise estatística

Para a elaboração do balanço hídrico climatológico (Figura 1), mediante o uso de planilhas eletrônicas (ROLIM; SENTELHAS; BARBIERI 1998), foram utilizados dados de evapotranspiração da cultura e pluviométricos obtidos em estação meteorológica automática instalada no Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) distante 16 km da área experimental.

Todas as variáveis estudadas foram analisadas estatisticamente por meio do emprego do SAS Proc GLM (SAS Institute Inc., Cary USA). Os resultados obtidos foram submetidos à

análise de variância e posteriormente para as causas de variação significativa foi aplicado o teste de comparação de médias Tukey ($p = 0,05$) para comparar o efeito das fontes de N.

Figura 1 - Balanço climatológico no ciclo agrícola de primeira soqueira de cana-de-açúcar (safra 2009/2010). DEF: déficit hídrico, EXC: excedente hídrico, ETP: evapotranspiração potencial, ETR: evapotranspiração real. As setas em vermelho indicam a época de adubação e as épocas de amostragem da parte aérea

3.3 Resultados e discussão

Não houve diferença entre tratamentos no acúmulo de fitomassa seca da parte aérea aos 44 dias após a adubação (d.a.a.), sendo o acúmulo médio de $3,3 \text{ Mg ha}^{-1}$ (Tabela 2). Como a colheita da cana-planta ocorreu no inverno, a temperatura média ($19,8^\circ\text{C}$) e a reserva hídrica do solo encontrava-se baixa, com déficit hídrico de 17 mm no mês da amostragem (Figura 1), o que, provavelmente, resultou em baixas taxas de evapotranspiração, diminuindo o influxo de água e nutrientes pelas raízes, sem que houvesse diferença entre os tratamentos no primeiro período de amostragem.

Aos 73 d.a.a. houve diferença entre os tratamentos no acúmulo de fitomassa seca da parte aérea, e os tratamentos U e CA apresentaram as maiores médias ($8,4$ e $7,3 \text{ Mg ha}^{-1}$, respectivamente), diferindo do tratamento SA ($6,4 \text{ Mg ha}^{-1}$) e do controle ($2,3 \text{ Mg ha}^{-1}$) (Tabela 2). Com exceção do controle houve incremento de massa de matéria seca para todos os tratamentos da primeira para a segunda amostragem. O aumento no acúmulo de fitomassa seca observado entre a primeira e a segunda amostragem coincidiu com as ótimas condições para a brotação da soqueira, por meio da combinação entre suprimento hídrico e temperaturas adequadas (Figura 1). Os valores de temperatura situaram-se dentro da faixa ideal (25°C a 27°C), para essa fase vegetativa da cana-de-açúcar (KEATING et al., 1999; LIU et al., 1999), que associadas à adubação nitrogenada, favoreceram o aumento do acúmulo de fitomassa seca para os tratamentos adubados com N.

Houve efeito de tratamentos no acúmulo de fitomassa seca de colmos e da parte aérea total aos 130 d.a.a. (Tabela 2). O tratamento com ureia foi o que resultou em maior produção de colmos por área ($16,1 \text{ Mg ha}^{-1}$), diferindo do controle e dos fertilizantes amoniacais (CA e SA), os quais produziram em média $8,0 \text{ Mg ha}^{-1}$. Com relação à produção de fitomassa seca de ponteiros e folhas secas, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Para a produção total da parte aérea houve efeito dos tratamentos ao nível de 1% de significância, sendo o tratamento ureia o que apresentou a maior produtividade ($25,7 \text{ Mg ha}^{-1}$), diferindo do controle e dos demais tratamentos, que apresentaram produtividade média de 17 Mg ha^{-1} .

Tabela 2 -Acúmulo de fitomassa seca na parte aérea da cana-de-açúcar e na raiz relacionado a aplicação de fontes de N na dose de 100 kg ha⁻¹ de N

	44	73	130				218 [#]				
Fontes de N	dias após a adubação (d.a.a.).....										
	P.A. TOTAL	Colmo	Ponteiro	FS	TOTAL	Colmo	Ponteiro	FS	TOTAL	Raiz	
	Mg ha ⁻¹										
CONTROLE	2,7	2,3 c	8,2 b	3,5	7,3	18,9 b	16,5	2,4	5,9	23,8	2,8
SA	3,5	6,4 b	8,2 b	4,2	4,4	16,8 b	14,6	2,6	5,1	22,3	3,3
CA	3,9	7,3 a	8,6 b	3,1	5,6	17,3 b	16,5	3,0	5,5	24,9	3,2
U	3,2	8,4 a	16,1 a	5,2	4,3	25,7 a	14,3	2,0	5,6	21,9	2,1
Média	3,3	6,1	10,3	4,0	5,4	19,7	15,5	2,5	5,5	23,2	2,9
Valor F	0,7 ^{NS}	44,9 ^{***}	24,8 ^{***}	1,6 ^{NS}	1,4 ^{NS}	8,2 ^{***}	0,7 ^{NS}	3,6 ^{NS}	0,4 ^{NS}	0,7 ^{NS}	5,6 ^{NS}
DMS	2,4	1,5	3,7	3,5	4,6	7,0	5,1	0,9	2,3	6,9	1,3
CV (%)	29,3	9,4	14,4	34,9	36,5	14,5	15,8	17,0	19,7	14,2	25,5

SA: sulfato de amônio, CA: cloreto de amônio, U: ureia. Médias com mesma letra, minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. ***, NS: significativo ao nível de 1% e não significativo, respectivamente. DMS: diferença mínima significativa, CV(%): coeficiente de variação. [#]colheita das microparcelas adubadas com ¹⁵N-fertilizante. P.A: parte aérea; FS: folha seca

A maior produtividade de fitomassa seca da parte aérea aos 130 d.a.a. para o tratamento ureia não era esperada. Mariano et al. (2012) avaliaram as perdas por volatilização de NH_3 da ureia na mesma área experimental do presente estudo e encontraram valores de NH_3 volatilizada da ordem de 25 kg ha^{-1} até os 30 dias após a adubação. As maiores taxas de perda ocorreram até os cinco d.a.a., chegando a 15 kg ha^{-1} . De acordo com os autores o regime pluviométrico foi o principal componente que determinou o processo de volatilização de NH_3 . A chuva de 23 mm de intensidade ocorrida algumas horas após a aplicação da ureia foi insuficiente para incorporar o fertilizante ao solo. A presença de restos vegetais na superfície do solo forma canais nos resíduos por onde a água percola preferencialmente, reduzindo a capacidade de incorporação da ureia ao solo. Dessa forma, maior lâmina de água é requerida para reduzir as perdas do N da ureia por volatilização de NH_3 (HAYSOM; CHAPMAN; VALLIS, 1990; FRENEY et al., 1994; CABRERA et al., 2005; ROCHETTE et al., 2009). Calcino e Burgess (1995) verificaram, em solo recoberto com palhada de cana-de-açúcar, que a precipitação pluviométrica de 23 mm não foi suficiente para incorporar a ureia ao solo. Entretanto, o nitrogênio exigido pelas plantas pode ser suprido pela mineralização da matéria orgânica, tanto a nativa como a recém incorporada.

No ciclo de primeira soqueira deve-se também considerar como fonte de nitrogênio as reservas em rizomas e raízes (TRIVELIN, 2000; FORTES et al., 2011; FRANCO et al., 2011), além do efeito residual do preparo do solo na mineralização de N-orgânico que ocorre na reforma do canavial para plantio da cana-planta. A cana-de-açúcar é uma cultura eficiente em aproveitar o N do solo, devido ao longo ciclo de crescimento e ao sistema radicular abundante. Grande número de estudos com fertilizantes marcados com ^{15}N tem mostrado que a maior parte do N absorvido pela planta vem do solo, uma vez que é baixa a contribuição do N de fertilizantes nitrogenados em relação ao total acumulado na cana-de-açúcar (CANTARELLA; TRIVELIN; VITTI, 2007). Franco et al. (2008) avaliaram a resposta a fertilização nitrogenada em áreas de cana-planta, e concluíram que o N do solo pode realmente satisfazer toda a exigência da cultura, tendo em vista que a mesma necessita de aproximadamente 140 kg de N para produzir 100 toneladas de colmos industrializáveis e a quantidade mineralizada, geralmente, é maior que este valor.

O máximo nas taxas de acúmulo de fitomassa seca da parte aérea ocorreu até os 130 d.a.a. (entre os meses de dezembro e fevereiro), período em que a pluviosidade acumulada foi em torno de 861 mm do total quantificado (1861 mm), ocorrendo um declínio nos ganhos de massa dos 130 aos 218 d.a.a (junho), devido às condições de clima seco e com menores

temperaturas ambientes, quando tem início o processo de acúmulo de sacarose (Tabela 2). O déficit hídrico total foi muito baixo durante todo o ciclo da cultura (27 mm), concentrando-se no mês de novembro, sendo pequeno na fase de máximo crescimento, não apresentando efeitos negativos no acúmulo de fitomassa. A cana-de-açúcar necessita de um período quente e úmido para brotar, emergir e perfilhar, tendo seu máximo desenvolvimento vegetativo de novembro a abril (para “cana de ano” e cana soca), diminuindo após esse período, devido às condições de clima pouco favoráveis.

A amostragem aos 218 d.a.a. foi realizada por ocasião da colheita das plantas das microparcelas com aplicação de fertilizantes-¹⁵N. Os incrementos de fitomassa seca foram baixos após 88 dias da penúltima amostragem, não havendo diferença entre os tratamentos e o controle para a massa seca de colmos, ponteiros, folhas secas e o total da parte aérea (Tabela 2). É importante ressaltar que na área experimental em que foi conduzida a pesquisa, houve severa infestação de ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehnii*), favorecida pelo clima úmido e quente predominante entre os meses de dezembro de 2009 a fevereiro de 2010, com média mensal de 206 mm de chuvas e temperatura de aproximadamente 25°C, o que pode ter levado a estagnação no desenvolvimento vegetativo das plantas adubadas com N, igualando-se ao controle. Os dados apresentados por Mariano et al (2013) para a disponibilidade de N-mineral no solo na área experimental nessa mesma época (218 d.a.a.) confirmam esta hipótese. O autor apontou um pequeno aumento no teor de N-NH_4^+ na camada superficial do solo (0-20 cm) em relação aos resultados de fevereiro (130 d.a.a.). A alteração nas condições climáticas (temperatura do ar, umidade do solo, chuvas, entre outros fatores), notadamente a partir de março, juntamente com a infestação de *Puccinia kuehnii* (ferrugem alaranjada) nas folhas de cana-de-açúcar do cultivar SP89-1115, reduziram fortemente a demanda nutricional da cultura nesse período. Com isso, houve sensível acúmulo de N-NH_4^+ na camada de 0-20 cm, proveniente da mineralização do resíduo orgânico presente na superfície do solo e da matéria orgânica do solo.

Para a produtividade de raízes, não foi observada diferença entre os tratamentos. (Tabela 2). As precipitações pluviais foram bem distribuídas durante todo o ciclo da cultura, concentrando-se na fase de máximo desenvolvimento da cana-de-açúcar, não apresentando efeitos expressivos da adubação na produtividade de raízes e de colmos. Segundo Vasconcelos, (2002) em condições de déficit hídrico há redução do crescimento radicular nas camadas mais superficiais devido, principalmente, ao aumento da resistência mecânica do solo seco, enquanto as camadas mais profundas, com o aumento da manutenção da umidade

por mais tempo, proporcionam menor resistência à penetração de raízes mais novas, contribuindo para o seu desenvolvimento. Otto et al. (2009), avaliaram o efeito de doses de sulfato de amônio na produtividade de colmos em uma primeira rebrota de cana-de-açúcar e verificaram resposta linear na produtividade de colmos e açúcar em função das doses de N-soqueira, não havendo, porém, efeito das doses de N na massa de raízes. Os autores atribuíram a falta de resposta na produção de raízes ao fato de ser uma primeira soqueira, que podia ter a disposição quantidade suficiente de N mineralizado, por razão do elevado estoque de resíduos que foi incorporado ao solo na reforma do canavial e que provavelmente forneceu todo o N necessário ao desenvolvimento do sistema radicular da cultura. A resposta da cana-de-açúcar em termos de crescimento dos compartimentos subterrâneos e da parte aérea em relação ao N é dependente das condições de solo. Otto (2012), em estudo desenvolvido em dois tipos de solo, concluiu que a adubação nitrogenada de plantio incrementou o crescimento de raízes e da parte aérea da cana-de-açúcar em Latossolo Vermelho-Amarelo. Entretanto, não houve incremento no crescimento em Latossolo Vermelho em que grande quantidade de N orgânico foi incorporado como resíduos culturais.

Considerando a compartimentalização do acúmulo de fitomassa seca da parte aérea, aos 130 d.a.a., os colmos representaram em média 53% da fitomassa seca total, enquanto os ponteiros e as folhas secas representaram, respectivamente, 21% e 26% (Tabela 3).

Tabela 3 - Distribuição percentual da fitomassa seca de colmo, ponteiro e folha seca, na parte aérea da cana-de-açúcar relacionada a aplicação de fontes de N na dose de 100 kg ha⁻¹ de N

130			218 [#]			
Fontes de N	dias após a adubação (d.a.a.).....					
	Colmo	Ponteiro	FS	Colmo	Ponteiro	FS
	%					
CONTROLE	50,9	19,4	29,6 ab	65,2	10,2	24,7
SA	49,2	24,9	25,8 ab	65,7	11,6	22,7
CA	49,9	17,6	32,5 a	66,1	12,0	21,9
U	62,8	20,4	16,8 b	65,1	9,4	25,5
Média	53,2	20,6	26,2	65,5	10,8	23,7
Valor F	3,5 ^{NS}	1,4 ^{NS}	2,4 ^{NS}	0,1 ^{NS}	2,5 ^{NS}	1,2 ^{NS}
DMS	13,4	11,2	18,6	8,3	3,2	6,4
CV (%)	12,9	25,8	33,9	6,0	14,3	12,8

SA: sulfato de amônio, CA: cloreto de amônio, U: ureia. Médias com mesma letra, minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. NS: não significativo. DMS: diferença mínima significativa, CV(%): coeficiente de variação. [#] colheita das microparcelas adubadas com ¹⁵N. FS: folha seca

Aos 218 d.a.a. os colmos, ponteiros e folhas secas representaram em média 65, 11 e 24 % da parte aérea total, respectivamente (Tabela 3). Esses dados evidenciam que ao final do ciclo da cultura da cana-de-açúcar aproximadamente 35% de toda a fitomassa da parte aérea (ponteiros e folhas secas) permanecem no sistema solo-planta após a colheita (exportação) dos colmos industrializáveis, sendo, portanto, fonte potencial de nutrientes para os ciclos seguintes da cultura.

O acúmulo de N na parte aérea não diferiu entre tratamentos aos 44 d.a.a. (Tabela 4). Como discutido anteriormente, no ciclo da cana-planta deve-se considerar como fonte de nitrogênio o nutriente contido no colmo-semente (tolete de plantio) e, para as soqueiras, as reservas em rizomas e raízes (TRIVELIN, 2000). Aos 73 d.a.a. houve diferenças entre tratamentos no acúmulo de N na parte aérea da cana-de-açúcar. Os tratamentos U e CA apresentaram maior acúmulo (médias de 108 e 92 kg ha⁻¹, respectivamente), que diferiram do tratamento SA (71,2 kg ha⁻¹) e do controle, que apresentou o menor acúmulo médio (30 kg ha⁻¹). Com exceção do controle, houve incremento dos 44 aos 73 d.a.a no acúmulo médio de N da parte aérea em todos os tratamentos. Nesse mesmo período também não foi constatado aumento na produção de fitomassa do controle (Tabela 3). O aumento no acúmulo de N na parte aérea foi da ordem de 20, 40 e 60 kg ha⁻¹, respectivamente, para os tratamentos SA, CA e U.

O acúmulo de N nos colmos foi mais elevado no tratamento U aos 130 d.a.a., apresentando o dobro de nitrogênio acumulado quando comparado aos demais tratamentos (Tabela 4). Para o acúmulo de N no ponteiro houve diferença entre os tratamentos, sendo o controle aquele que mostrou maior acúmulo de N, diferindo do tratamento CA, que apresentou o menor acúmulo médio, não diferindo, porém dos tratamentos SA e U. Não foi constatada diferença entre os tratamentos para acúmulo de N em folha seca e na parte aérea total.

Tabela 4 - Acúmulo de nitrogênio na parte aérea e na raiz da cana-de-açúcar relacionado a aplicação de fontes de N na dose de 100 kg ha⁻¹ de N

	44		73		130		218 [#]				
Fontes de N	dias após a adubação (d.a.a.).....										
	P.A. TOTAL	Colmo	Ponteiro	FS	P.A. TOTAL	Colmo	Ponteiro	FS	P.A. TOTAL	Raiz	
	kg ha ⁻¹										
CONTROLE	34,2	29,9 c	51,7 b	47,8 a	40,6	140,1	47,4	28,9 a	48,6	124,8	18,4 ab
SA	49,3	71,2 b	41,7 b	28,3 ab	62,2	132,2	44,1	13,2 b	53,1	110,4	20,9 a
CA	51,9	92,4 a	49,3 b	20,9 b	76,4	146,7	50,8	16,5 b	58,5	125,8	16,0 ab
U	47,5	108,3 a	104,7 a	34,2 ab	52,3	191,2	54,6	11,9 b	61,9	128,4	9,4 b
Valor F	1,4 ^{NS}	55,6 ^{***}	17,7 ^{***}	3,7 ^{**}	1,5 ^{NS}	2,9 ^{NS}	1,7 ^{NS}	15,0 ^{***}	0,7 ^{NS}	0,6 ^{NS}	4,4 ^{**}
DMS	28,2	28,2	28,8	24,9	51,7	64,2	18,3	8,4	28,6	44,9	9,8
CV (%)	29,3	12,1	22,2	36,2	42,6	20,1	17,7	22,6	24,6	17,5	28,9

SA: sulfato de amônio, CA: cloreto de amônio, U: ureia. Médias com mesma letra, minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. ***, **, NS: significativo ao nível de 1, 5% e não significativo, respectivamente. DMS: diferença mínima significativa, CV(%): coeficiente de variação. [#]colheita das microparcelas adubadas com ¹⁵N. P.A.: parte aérea; FS: folha seca

Aos 218 d.a.a. ocorreu diferença entre tratamentos no acúmulo de N de ponteiros (Tabela 4). O controle apresentou o dobro de N acumulado (29 kg ha^{-1}) quando comparado as demais fontes de N. Em todos os tratamentos houve redução no acúmulo de N da parte aérea (total), dos 130 aos 218 dias após a adubação. A redução média foi de 20 kg ha^{-1} de N para os tratamentos SA, CA e o controle, e de 60 kg ha^{-1} para o tratamento U. O nitrogênio, por ser um nutriente altamente móvel na planta, pode ser redistribuído para outros órgãos, como por exemplo, para raízes e rizomas (EPSTEIN; BLOOM 2006). Além disso, na senescência foliar, durante o período de maturação fisiológica, ocorre aumento da fotorrespiração e da hidrólise de proteínas com redução nas atividades das enzimas glutamina sintetase e glutamato sintase principais responsáveis pela incorporação de amônio a aminoácidos e proteínas. A redução da atividade dessas enzimas resulta no aumento da concentração de amônio nas células das plantas (VALLIS; KEATING, 1994; SCHJOERRING; HUSTED; MATTSSON, 1998). Como o amônio em altas concentrações é tóxico para os vegetais, ocorre eliminação via corrente transpiratória (MATTSSON; HUSTED; SCHJOERRING, 1998; NG KEE KWONG; DEVILLE 1994). Trivelin (2000) estimou perdas de até $100 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de N na forma NH_3 via corrente transpiratória em cana-de-açúcar. Wood et al. (1996), também encontrou redução do acúmulo de N nas folhas nos estádios finais e atribuíram as perdas por volatilização de NH_3 a via foliar.

A ausência de resposta à adubação nitrogenada no acúmulo de N em colmos e na parte aérea total aos 218 d.a.a. pode ter ocorrido devido ao solo apresentar elevado teor de carbono orgânico total (23 g dm^{-3}), além da presença de resíduo vegetal apresentando 54 kg ha^{-1} de N, que com a adição do N pode ter acentuado a mineralização da matéria orgânica, suprimindo as necessidades da cultura, inclusive do controle que apresentou mesma produção e acúmulo de fitomassa ao final do ciclo da cultura. Segundo Dourado-Neto et al. (2010), a principal fonte de N para as culturas é o N da matéria orgânica do solo. Otto (2012) desenvolveu experimento para verificar o impacto da mineralização do N do solo na resposta da cana-de-açúcar à adubação nitrogenada em dez experimentos, incluindo o solo do presente estudo. Os resultados mostraram que a diminuição significativa na fração do N-NH_4^+ -hidrolisável foi acompanhada por aumento significativo na fração N-aminoaçúcar. É muito comum na literatura referir-se a um aumento na disponibilidade de N do solo quando adubado com nitrogênio. Esse efeito é conhecido como “priming” e tem sido referido como a estimulação inicial na decomposição da matéria orgânica do solo pela biomassa microbiana, quando da adição de N inorgânico (fertilizante). No entanto, há pouca evidência na literatura que a adição de N inorgânico ao solo possa acelerar a mineralização do N orgânico (JENKINSON et

al. 1985). A variação na resposta da adubação nitrogenada é tipicamente observada em áreas de cana-de-açúcar colhidas sem despalha a fogo. Muitos estudos documentaram resposta a adubação nitrogenada (COSTA; VITTI; CANTARELLA, 2003; VITTI et al., 2007; VIEIRA et al., 2010; VIEIRA-MEGDA et al., 2012; CHOCHAN et al., 2012), mas em outros, a aplicação de N não foi acompanhada por aumento na produtividade (URQUIAGA et al., 1998; PRADO; PANCELLI, 2008).

A utilização da folha +3 para a avaliação do N na planta proveniente do fertilizante da cana-de-açúcar mostrou-se eficiente considerado os resultados da Tabela 5. Aos 218 dias após a adubação a abundância de ^{15}N na folha +3 e a abundância média da parte aérea das plantas cultivadas nas microparcelas que receberam ^{15}N não diferiram entre si. A utilização de órgãos vegetais de plantas de cana-de-açúcar para determinação da abundância de ^{15}N e a estimativa da porcentagem do nitrogênio na planta proveniente do fertilizante (NPPF) pode ser utilizada em pesquisas com fertilizantes nitrogenados em cana-de-açúcar (SAMPAIO et al., 1984).

A técnica tem como princípio que os valores de abundância de ^{15}N (% em átomos) em folhas +3 representam o valor de abundância média de toda a parte aérea da cana-de-açúcar (TRIVELIN, 2000). Franco et al. (2011) avaliaram a contribuição do N derivado do fertilizante no total acumulado na parte aérea da cana-de-açúcar durante dois ciclos consecutivos e constataram que a abundância em átomos de ^{15}N foi similar na F+3 e na parte aérea das plantas das microparcelas adubadas com ureia (no ciclo de cana-planta) ou sulfato de amônio (primeira soqueira) marcadas no isótopo de N.

Takahashi (1964) em experimento realizado no Havaí com cana-planta e utilizando adubo nitrogenado marcado no isótopo ^{15}N , utilizaram o valor de abundância do isótopo do terço médio de folhas +3 na estimativa do NPPF da planta toda, em alguns estádios de crescimento da cana-de-açúcar. O autor verificou que os valores de abundância do isótopo se apresentavam na seguinte ordem decrescente: palha (folhas secas) > colmo > folhas verdes. Por outro lado, Carnaúba (1989) não encontrou diferenças na abundância de ^{15}N na primeira folha com aurícula visível e demais folhas verdes, com o colmo e planta inteira, em cana-planta e cana soca adubadas com ureia- ^{15}N e sugeriu que a folha +1 ou qualquer folha verde poderia ser utilizada como indicadora da abundância média de ^{15}N na planta inteira. Dessa forma, os resultados apresentados na Tabela 5 asseguram confiabilidade na interpretação dos resultados de % NPPF e de recuperação pela cultura do fertilizante aplicado, obtidos a partir da abundância de ^{15}N da folha +3.

Tabela 5 - Abundância isotópica em % de átomos de ^{15}N na folha +3 e na parte aérea (média) das plantas das microparcelas na colheita da primeira soqueira de cana-de-açúcar

Fontes de N	F+3	Parte aérea	DMS	CV (%)
0	0,367	0,368	0,023	2,3
U LA	0,385	0,375	0,011	2,3
U LC	0,613	0,669	0,17	19,6
SA LA	0,402	0,381	0,06	10,9
SA LC	0,902	0,918	0,31	24,0
CA LA	0,378	0,381	0,09	15,6
CA LC	0,668	0,834	0,19	18,4

SA: sulfato de amônio, CA: cloreto de amônio, U: ureia. NS: não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. LA e LC: linha adjacente e linha central, respectivamente. DMS: diferença mínima significativa, CV(%): coeficiente de variação.

O N na planta proveniente do fertilizante (NPPF) não diferiu em função das fontes nitrogenadas para fitomassa seca da parte aérea aos 44, 73 e 130 d.a.a., apresentando valores da ordem de 26, 59 e 27 kg ha⁻¹ de N-fertilizante, respectivamente para as épocas de avaliações (Tabela 6). Ocorreu aumento do acúmulo de N proveniente do fertilizante aos 73 d.a.a., com queda de aproximadamente 50% aos 130 dias após a adubação. A perda de N da parte aérea durante o ciclo da cana-de-açúcar pode ser atribuída à volatilização de amônia pela parte aérea das plantas, conforme discutido anteriormente. Assim posto, os vegetais de forma geral, desenvolveram um mecanismo de desintoxicação da concentração de N-NH_4^+ na forma de NH_3 via estômato, resultando em perdas naturais de N por volatilização de NH_3 pela parte aérea (MATTSSON; HUSTED; SCHJOERRING, 1998). Franco et al. (2008) e Franco et al. (2011) avaliaram a recuperação do N derivado da aplicação de ureia e sulfato de amônio em cana-planta e primeira soqueira e obtiveram valores de recuperação da mesma ordem do observado no presente experimento, atribuindo a redução da recuperação do N-fertilizante ao aumento da hidrólise enzimática decorrente da senescência da cultura na fase de maturação.

Aos 218 d.a.a. houve diferença na recuperação de N-fertilizante entre os tratamentos para colmos, sendo o cloreto de amônio, o que apresentou maior recuperação de NPPF (15,5%), diferindo dos tratamentos SA e U. Não houve diferença significativa entre tratamentos para ponteiros, folhas secas e a parte aérea total (Tabela 6).

Tabela 6 - Nitrogênio na planta proveniente do fertilizante durante o ciclo de primeira soqueira de cana-de-açúcar relacionado à aplicação de fontes de N na dose de 100 kg ha⁻¹ de N

	44	73	130	218 [#]				
Fontes de N	dias após adubação (d.a.a.)							
	P.A. Total	Colmo	Ponteiro	FS	Total	Raiz		
	kg ha ⁻¹							
SA	30,4	50,1	26,9	6,1 b	3,4	12,5	22,1	1,7 a
CA	26,1	59,6	27,1	15,5 a	3,5	10,1	29,1	1,7 a
U	22,8	67,7	27,2	9,5 b	1,2	6,5	17,3	0,5 b
Média	26,4	59,1	27,1	10,4	2,7	9,7	22,8	1,3
Valor F	1,4 ^{NS}	1,2 ^{NS}	0,0 ^{NS}	6,7 ^{**}	3,9 ^{NS}	2,7 ^{NS}	2,9 ^{NS}	3,6 ^{**}
DMS	24,3	27,2	23,3	7,2	2,6	7,3	13,9	1,1
CV (%)	12,7	31,8	12,4	35,1	48,3	38,0	30,9	50,3

SA: sulfato de amônio, CA: cloreto de amônio, U: ureia. Médias com mesma letra, minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. ***, **, NS: significativo a 1, 5% e não significativo, respectivamente. DMS: diferença mínima significativa, CV(%): coeficiente de variação. [#]colheita das microparcelas adubadas com ¹⁵N. P.A: parte aérea, FS: folha seca

Para o acúmulo de N-fertilizante na raiz, apesar do elevado coeficiente de variação (Tabela 6), foi constatada diferença significativa entre os tratamentos, sendo que o tratamento U apresentou o menor acúmulo de N-fertilizante, cerca de 1/3 menos que os fertilizantes amoniacais. O acúmulo de N-fertilizante nas raízes em relação à parte aérea total foi menor do que 10% para os tratamentos SA e CA e menor do que 3% para o tratamento U. Esses resultados são de mesma ordem dos encontrados por Franco et al. (2008), em que o aproveitamento do N-fertilizante pelas plantas de cana-de-açúcar representou em média 11,7 % do N total acumulado na planta toda e a distribuição do N proveniente do fertilizante, nas diversas partes da planta, não variou com a dose de N, sendo em média de 50 % nos colmos, 22 % nas folhas secas, 20 % nos ponteiros e 8 % nas raízes.

A porcentagem média do N nas plantas de cana-de-açúcar proveniente dos fertilizantes em relação ao N total acumulado ao longo do ciclo da cultura foi de 57; 66; 18 e 19%, respectivamente, aos 44, 73, 130 e 218 d.a.a (Tabela 7). O tratamento U foi o que apresentou o menor acúmulo de NPPF na parte aérea total (13,6 kg ha⁻¹) aos 218 d.a.a., diferindo do tratamento CA (22,6 kg ha⁻¹), não diferindo, porém, do tratamento SA.

Aos 218 d.a.a. a porcentagem do N-fertilizante no total de N acumulado nas partes da planta (parte aérea) ocorreu da seguinte forma: 20% nos colmos, 19% nas folhas secas e 17% nos ponteiros (Tabela 7). Trivelin et al. (2002) e Bologna-Campbell (2007) constataram, no

momento da colheita da cana-planta cultivada em lisímetros, que cerca de 40% do N-fertilizante absorvido pela cana-de-açúcar estavam nas folhas secas, 22% na parte subterrânea, 19% nos colmos e 15% nos ponteiros. Os resultados de distribuição percentual do N-fertilizante (Tabela 7) mostram o benefício da colheita sem despalha a fogo, tendo em vista que de todo o N acumulado cerca de 20% do N-fertilizante retornam ao solo, como folhas secas e ponteiros, após a colheita da cana-de-açúcar.

O nitrogênio proveniente do fertilizante contribuiu com mais de 60% do total de N acumulado nos períodos iniciais do ciclo da cultura (até os 73 d.a.a.) e, após esse período a participação do N-fertilizante na nutrição da cultura reduziu substancialmente, chegando a valores da ordem de 18% aos 130 e 218 d.a.a., predominando, portanto, N de outras fontes, possivelmente o N da mineralização do N nativo do solo. Esse fato evidencia que o nitrogênio do fertilizante pode não ser fator limitante para a expressão da máxima produtividade agrícola em solos com elevados teores de matéria orgânica e região de temperatura e precipitação elevada, favorecendo assim a mineralização do N-orgânico, levando-se também em consideração que o controle acumulou quantidades de N (kg ha^{-1}) equivalentes aos demais tratamentos. Esses valores de recuperação estão de acordo com os resultados da literatura para condições de campo, cerca de 10 a 50 % (WONG YOU CHEONG et al., 1980; SAMPAIO et al., 1984; WENG et al., 1991; CHAPMAN et al., 1994; TRIVELIN et al., 1995, 1996; GAVA et al., 2001).

Tabela 7 - Participação percentual do nitrogênio dos fertilizantes na parte aérea da cana-de-açúcar durante o ciclo agrícola em relação ao total de N acumulado

	44	73	130	218 [#]			
Fontes de N (100 kg ha ⁻¹)	 dias após adubação (d.a.a.)						
	P.A. TOTAL		Colmo	Ponteiro	FS	TOTAL	
	%.....						
SA	63,5	72,3	20,3	14,2b	26,2 a	23,6 a	20,0 ab
CA	55,8	64,8	19,2	29,9 a	20,4 a	16,7 a	22,6 a
U	51,6	61,9	14,3	17,6b	10,3 b	10,3b	13,6 b
Média	57,0	66,3	17,9	20,6	19,0	16,9	18,7
Valor F	0,3 ^{NS}	0,3 ^{NS}	1,9 ^{NS}	7,1 ^{***}	5,7 ^{**}	8,4 ^{***}	4,5 ^{**}
DMS	41,2	38,2	9,2	12,3	13,3	9,0	8,7
CV (%)	36,7	29,1	26,0	30,2	35,7	26,9	23,5

SA: sulfato de amônio, CA: cloreto de amônio, U: ureia. Médias com mesma letra, minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. ***, **, NS: significativo ao nível de 1, 5% e não significativo, respectivamente. DMS: diferença mínima significativa, CV(%): coeficiente de variação. [#]colheita das microparcelas adubadas com ¹⁵N. P.A: parte aérea, FS: folha seca

O N-fertilizante na parte aérea total aos 218 d.a.a. representou em média 19 % do total acumulado (Tabela 7). Sampaio et al. (1984), encontraram valores de contribuição do N da ureia para as doses de 20 e 60 kg ha⁻¹ menores que 10 % do total acumulado na planta toda de cana-de-açúcar. Trivelin et al. (2002b) obtiveram valores da ordem de 11,5 % para as doses de N-ureia; Gava et al. (2001) verificaram que o N na planta proveniente do fertilizante representou de 10 a 16 % do N total acumulado na parte aérea da soqueira de cana-de-açúcar. No entanto, Bologna-Campbell (2007) constatou uma contribuição mais elevada, variando de 9,5 a 27,2 %, com resposta linear para as doses de N, em todas as partes da planta.

3.4 Conclusões

A utilização da folha +3 para medidas de abundância de ¹⁵N em experimentos com o traçador é própria para a predição da porcentagem de nitrogênio na planta proveniente do fertilizante e para a estimativa do acúmulo do N-fertilizante pela cultura durante o ciclo vegetativo, não sendo necessária a amostragem de toda a planta para esse fim.

O nitrogênio do fertilizante absorvido pela cana-de-açúcar tem elevada participação no total de N extraído e acumulado pela cultura nos estádios iniciais, reduzindo-se na fase de maturação da cana-de-açúcar.

O aproveitamento do N da ureia e a sua participação no total do N extraído pela cultura evidenciam que essa fonte nitrogenada apresenta a mesma eficiência agrônômica dos demais fertilizantes nitrogenados, apesar da susceptibilidade de perdas por volatilização de amônia.

Referências

ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; ANDRADE, J.C. Determinação de cobre, ferro, manganês, zinco, cádmio, cromo, níquel e chumbo em solos usando a solução de DTPA em pH 7. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Ed.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. p. 271-276.

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.

BOLOGNA-CAMPBELL, I. **Balço 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”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

CABRERA, M.L.; KISSEL, D.E.; VAIO, N.; CRAIG, J.R.; REMA, J.A.; MORRIS, L.A. Loblolly pine needles retain urea fertilizer that can be lost as ammonia. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 69, p. 1525-1531, 2005.

CALCINO, D.V.; BURGESS, D.J.W. Effect of urea placement on crop cycle yields of green trash blanketed sugarcane ratoons. **Proceedings of Australian Society Sugar Cane Technologists**, Bundaberg, v. 17, p. 193-198, 1995.

CANTARELLA, H. Adubação nitrogenada em sistema de cana crua. **STAB. Açúcar. Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 16, n. 4, p. 21-22, 1998.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C. Nitrogênio e enxofre na cultura da cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO SOBRE NITROGÊNIO E ENXOFRE NA AGRICULTURA BRASILEIRA, 2007, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: IPNI, 2007. p. 355-392.

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

CARNAÚBA, B.A.A. **Eficiência de utilização e efeito residual de uréia-¹⁵N em cana-de-açúcar (*Saccharum spp*), em condições de campo**. 1989. 193 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1989.

CASSMAN, K.G.; MUNNS, D.N. Nitrogen mineralization as affected by soil moisture, temperature and depth. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 44, p. 1233-1237, 1980.

CHAPMAN, L.S.; HAYSOM, M.B.C.; SAFFIGNA, P.G. The recovery of ¹⁵N from labelled urea fertilizer in crop components of sugarcane and in soil profiles. **Austrian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 45, p. 1577-1585, 1994.

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

CHOHAN, M.; PAHNWAR, R.N.; QAZI, B.R.; JUNEJO, S.; UNAR, G.S.; ARAIN, M.Y.; TALPUR, U.A. Quantitative and qualitative parameters of sugarcane variety HoTh-300 as affected by different levels of NPK applications. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, Lahore, v. 22, p. 1060-1064, 2012.

COPERSUCAR. **Nona geração de variedades de cana-de-açúcar Copersucar**. Piracicaba, 2003. 15 p. (Boletim Técnico Copersucar, Edição Especial).

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, 2003.

DILLEWIJN, C. van. **Botany of sugarcane**. Waltham: ChronicaBotanica, 1952. 371 p.

DOURADO-NETO, D.; POWLSON, D.; ABU-BAKAR, R.; BACCHI, O.O.S.; BASANTA, M.V.; THI CONG, P.; KEERTHISINGHE, G.; ISMAILI, M.; RAHMAN, S.M.; REICHARDT, K.; SAFWAT, M.S.A.; SANGAKKARA, R.; TIMM, L.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.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Produção de informação; Rio de Janeiro: EMBRAPA Solos, 2006. 412 p.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2. ed. Londrina: Editora Planta, 2006. 403 p.

ESPIRONELO, A.; COSTA, A.A.; LANDELL, M.G.A.; PEREIRA, J.C.V.N.A.; IGUE, T.; CAMARGO, A. P. de; 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.

FARONI, C.E.; TRIVELIN, P.C.O. Quantificação de raízes metabolicamente ativas de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, p. 1007-1013, 2006.

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, Alcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 25, p. 32 – 36, 2007.

FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O.; FARONI, C.E.F.; VITTI, A.C.; OTTO, R. Aproveitamento pela cana-de-açúcar da adubação nitrogenada de plantio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 2763-2770, 2008.

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

FRENEY, J.R.; DENMEAD, O.T.; WOOD, A.W.; SAFFIGNA, P.G. Ammonia loss following urea addition to sugar cane trash blankets. **Proceedings of Australian Society Sugar Cane Technologists**, Melbourne, v. 16, p. 114-121, 1994.

FORTES, C. ; Trivelin, P. C. O. ; VITTI, A. C. ; Ferreira, D. A. ; FRANCO, H. C. J. ; OTTO, R. Recovery of Nitrogen (^{15}N) by Sugarcane from Previous Crop Residues and Urea Fertilisation Under a Minimum Tillage System. **Sugar Technology**, New Delhi, v. 13, p. 42-46, 2011

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

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, n. 11, p. 1347-1354, 2001.

GAVA, G.J.C.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, M.W. Balanço do nitrogênio da uréia (^{15}N) e da palhada (^{15}N) no sistema solo-cana-de-açúcar (cana soca). In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE DOS TECNICOS AÇUCAREIROS E ALCOOLEIROS DO BRASIL, 8., 2002, Recife. **Resumos...** Olinda: STAB. 2002. p. 245-251.

HAYSOM, M.B.; CHAPMAN, L.S.; VALLIS, I. Recovery of nitrogen from ^{15}N urea applied to a green cane trash blanket at Mackay. **Proceedings of Australian Society Sugar Cane Technologists**, Brisbane, v. 16, p. 79-84, 1990.

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

JENKINSON, D.S.; FOX, R.H.; RAYNER, J.H. Interactions between fertilizer nitrogen and soil nitrogen - the so-called 'priming' effect. **Journal of Soil Science**, Oxford, v. 36, p. 425-444, 1985.

KEATING, B.A.; ROBERTSON, M.J.; MUCHOW, R.C.; HUTH, N.I. Modelling sugarcane production systems I: development and performance of the sugarcane module. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 48, p. 27-36, 1999.

KINGSTON, G.; ANINK, M.C.; ALLEN, D. Acquisition of nitrogen by ratoon crops of sugarcane as influenced by waterlogging and split applications. **Proceedings of Australian Society Sugar Cane Technologists**, Brisbane, v. 30, p. 202-211, 2008.

LARA CABEZAS, W.A.R.; YAMADA, T. Uréia aplicada na superfície do solo: um péssimo negócio! **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 86, p. 9-10, 1999.

LIU, D.L.; KINGSTON, G.; BULL, T.A.A. new technique for determining the thermal parameters of phenological development in sugarcane, including sub optimum and supra-optimum temperature regimes. **Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam, v. 90, p. 119-139, 1999.

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

MARIANO, E.; TRIVELIN, P.C.O.; VIEIRA-MEGDA, 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.; TRIVELIN, P.CO.; LEITE, J.M.; VIEIRA-MEGDA, M.X; OTTO, R.; FRANCO, H.C.J. Incubation methods for assessing mineralizable nitrogen in soils under sugarcane. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 37:450-461, 2013.

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

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.

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. Application of ¹⁵Nlabelled urea to sugar cane through a drip-irrigation system in Mauritius. **Fertilizer Research**, Hague, v. 39, p. 223-228, 1994.

NG KEE KWONG, K.F.; DEVILLE, J.; CAVALOT, P.C.; RIVIERE, V. Value of cane trash in nitrogen nutrition of sugarcane. **Plant and Soil**. Dordrecht, v. 102, p. 79-93, 1987.

OLIVEIRA, M.W.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; PENATTI, C.P. Degradação da palhada de cana-de-açúcar. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, p. 803-809, 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**, v. 1, p. 1-2, 2013.

OTTO, R. **Desenvolvimento radicular e produtividade da cana-de-açúcar relacionados à mineralização do N do solo e à adubação nitrogenada**. 2012. 117 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

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.

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

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

RAUN, W.R.; JOHNSON, V.G. Improving nitrogen use efficiency for cereal production. **Agronomy Journal**, Madison, v.91, p. 357–363, 1999.

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.

ROLIM, G.S.; SENTELHAS, P.C.; BARBIERI, V. Planilhas no ambiente EXCELTM para os cálculos de balanços hídricos: normal, sequencial, de cultura e de produtividade real e potencial. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 6, p. 133-137, 1998.

SALCEDO, I.H.; SAMPAIO, E.V.S.B.; ALVES, G.D. Mineralização do carbono e do nitrogênio em solo cultivado com cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 9, p. 33-38, 1985.

SAMPAIO, E.V.S.B.; SALCEDO, I.H.; BETTAMY, J. Dinâmica de nutrientes em cana-de-açúcar. I. Eficiência de utilização de uréia-¹⁵N em aplicação única ou parcelada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19, p. 943-949, 1984.

SAS INSTITUTE. **Propriety software release 6.11**. Cary, 1996.

SCHJOERRING, J.K.; HUSTED, S.; MATTSSON, M. Physiological parameters controlling plant-atmospheric ammonia exchange. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 32, p. 491-498, 1998.

SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC; ABEAS; ESAL; FAEPE, 1988. 236 p.

SOIL SURVEY STAFF. **Keys to soil taxonomy**. 11th ed. Washington: USDA, Natural Resources Conservation Service, 2010. 344 p.

TAKAHASHI, D.T. N¹⁵-nitrogen field studies with sugarcane. **Hawaiian Planters Record**, Honolulu, v. 57, p. 198-222, 1964.

_____. Effect of amount and timing on the fate of fertilizer nitrogen in lysimeter studies with ¹⁵N. **Hawaiian Planters Record**, Honolulu, v. 57, p. 292-308, 1967.

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.

TILMAN, D.; CASSMAN, K.G.; MATSON, P.A.; NAYLOR, R.; POLASKY, S. Agricultural sustainability and intensive production practices. **Nature**, London, v. 418, p. 671-677, 2002.

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

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

TRIVELIN, P.C.O.; LARA CABEZAS, W.A.R.; VICTORIA, R.L.; REICHARDT, K. Evaluation of a ¹⁵N 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.; OLIVEIRA, M.W.; VITTI, A.C.; GAVA, G.J.C.; BENDASSOLLI, J.A. Perdas do nitrogênio da uréia no sistema solo-planta em dois ciclos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 193-201, 2002a.

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 132 arenoso com incorporação de resíduos da cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, p. 636-646, 2002b.

TRIVELIN, P.C.O.; STEFANUTTI, R.; LIMA FILHO, O.F.; TZIBOY, E.A.T.; OLIVEIRA, J.A.; BENDASSOLLI, J.A. Volatilização de amônia do solo associada à aplicação superficial de solução nitrogenada com uréia e nitrato de amônio. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DO SOLO, 13., 1996. Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: SLACS, 1996. 1 CD-ROM.

URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M.; OLIVEIRA, O.C.; RESENDE, A.S.; WEBER, H. **Efeito da queima, aplicação de N, irrigação e molibdênio na produção e acumulação de nitrogênio na cana-de-açúcar a longo prazo**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1998. 13 p. (EMBRAPA. CNPAB. Documentos, 72).

VALLIS, I; KEATING, B.A. Uptake and losses of fertilizer and soil nitrogen in sugar crops. **Proceedings of Australian Society Sugar Cane Technologists**, Bundaberg, v. 16, p. 105-113, 1994.

VASCONCELOS, A.C.M. **Desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea de socas de cana-de-açúcar sob dois sistemas de colheita: crua mecanizada e queimada manual**, 2002. 140 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2002.

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

VIEIRA-MEGDA, M.X.; TRIVELIN, P.C.O.; FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; VITTI, A.C. Eficiência agrônômica de adubos nitrogenados em soqueira de cana-de-açúcar colhida sem queima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, p. 1681-1690, 2012.

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

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

WENG, T.; CHAN, Y.; LI, S. Effects of various forms of nitrogen fertilizers and application methods on sugarcane yield and nitrogen uptake. **Taiwan Sugar**, Taipei, v. 38, p. 22-24, 1991.

WONG YOU CHEONG, Y.; NG KEE KWONG, K.F.; CAVALOT, P.C. Comparative study of ammonium and nitrate fertilizers in two soils of Mauritius cropped with sugar-cane. In: RESEARCH COORDINATION MEETING IN SOIL NITROGEN AS FERTILIZER OR POLLUTANT, 1978, Vienna. **Proceedings...** Vienna: IAEA, 1980. p. 351-367.

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

YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S. Como melhorar a eficiência da adubação nitrogenada do milho? **Informações agronômicas**, Piracicaba, n. 91, 2000. 16 p.

4 ÍON CLORETO COMO INIBIDOR DA NITRIFICAÇÃO

Resumo

Devido ao uso contínuo de cloreto de potássio como fonte de potássio na maioria das culturas, vem se acentuando o acúmulo de cloro nos solos e nas plantas, principalmente nas adubações de culturas perenes e naquelas cujos restos de cultura voltam ao solo anualmente. O excesso na disponibilidade de íon cloreto desencadeia uma série de distúrbios fisiológicos nas plantas e microrganismos, merecendo especial atenção quanto ao seu efeito, devido ao aumento de concentração no solo. Objetivou-se avaliar o potencial de inibição do íon cloreto adicionado ao solo como cloreto de amônio e cloreto de potássio na reação de nitrificação no solo. O experimento foi conduzido em condições de laboratório, utilizando amostra da camada arável de um Latossolo Vermelho distrófico argiloso cultivado com cana-de-açúcar. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições e os tratamentos constaram da combinação de sulfato de amônio ou cloreto de amônio na dose de 100 mg kg⁻¹ de nitrogênio, com cloreto de potássio na dose de 100 ou 200 mg kg⁻¹ de cloro. Avaliou-se, também, o efeito de doses de cloreto de amônio (50, 100 e 200 mg kg⁻¹ de N com respectivos 130, 260 e 520 mg kg⁻¹ de Cl e incluiu-se um controle, sem a aplicação de nitrogênio e cloro. O solo foi pré-incubado por 20 dias em ambiente escuro, temperatura média de 26°C e a 50% da capacidade máxima de retenção de água (CMRA). Após o período de pré-incubação a umidade do solo foi corrigida para 70% da CMRA e os tratamentos foram aplicados. Em seguida, as amostras foram incubadas, por um período de 21 dias, em câmara do tipo BOD –“Biologic oxygen demand”. A adição de cloreto de amônio combinada ao cloreto de potássio resultou em redução da concentração de N-nítrico no solo. O aumento das concentrações de cloro no solo por meio do fornecimento das doses de N-cloreto de amônio resultou em inibição da nitrificação no solo. O aumento da concentração de amônio foi diretamente proporcional ao aumento da condutividade elétrica na solução do solo. A combinação de cloreto de amônio com cloreto de potássio promoveu redução na concentração de carbono da biomassa microbiana, após 24 horas da aplicação. O pH da solução do solo apresentou relação inversa com o aumento das concentrações de amônio. O íon cloreto mostrou-se um potencial inibidor da oxidação do amônio no solo.

Palavras-chave: Cloreto de amônio; Cloreto de potássio; Inibidor de nitrificação; Amônio; Nitrato

Abstract

Due continued use of potassium chloride as potassium source in most crops, has been increasing accumulate of chlorine in soil and plants, especially in fertilization of perennial crops and those whose crop residues return to the soil annually. The availability of excess chloride ion triggers a number of physiological disorders in plants and microorganisms, deserving particular attention to its effect due to the increased concentration in the soil. This study aimed to evaluate the potential inhibition of chloride ion as ammonium chloride and potassium chloride in the reaction of nitrification in soil. The experiment was conducted under laboratory conditions, using sample of the surface soil of a Typic Hapludox cultivated with sugarcane. The experimental design was completely randomized with four replications and the treatments was ammonium sulfate or ammonium chloride at a dose of 100 mg N kg⁻¹ with potassium chloride at a dose of 100 or 200 mg Cl kg⁻¹. We evaluated also the effect of ammonium chloride doses (50, 100, and 200 mg N kg⁻¹ with respective 130, 260 and 520 mg

Cl kg⁻¹). A control was included without application of nitrogen and chlorine. The soil was pre-incubated for 20 days in dark condition, mean temperature of 26°C and 50% of the water hold capacity (WHC). After the pre-incubation soil moisture was adjusted to 70% of WHC, the treatments were applied. Then, the samples were incubated for a period of 21 days in BOD chamber - "Biologic oxygen demand". The addition of ammonium chloride combined with potassium chloride resulted in reduction of nitrate-N concentration in soil. The increase of chlorine concentrations in soil by providing of N-ammonium chloride doses resulted in inhibition of nitrification in soil. The increased concentration of ammonium was directly proportional to the increase in osmotic pressure. The combination of ammonium chloride with potassium chloride caused a reduction in the concentration of microbial biomass carbon, after 24 hours of application. The soil pH showed an inverse relationship with increasing concentrations of ammonium. The chloride ion was found to be a potential inhibitor of ammonium oxidation in soil.

Keywords: Ammonium chloride; Potassium chloride; Nitrification inhibitor; Ammonium; Nitrate

4.1 Introdução

Em sistemas agrícolas de cultivo, a inibição da nitrificação por um determinado período de tempo, mantendo o nitrogênio (N) na forma de amônio, estável no solo, pode auxiliar no aumento da eficiência do uso do N pelas plantas (SUBBARAO et al. 2006a; SOURI, 2010). Robinson et al. (2011) avaliaram, a preferência de absorção de N-NH₄⁺ pelas plantas de cana-de-açúcar quando comparada ao N-NO₃⁻. Os autores verificaram que a assimilação de amônio foi significativamente superior a de nitrato nas raízes, apontando para fortes evidências da predominância de absorção de N pela cana-de-açúcar na forma de amônio.

Buscando-se aumentar a eficiência de uso do N e minimizar problemas ambientais e econômicos, estudos vêm sendo desenvolvidos com o uso de inibidores sintéticos de nitrificação, empregados para retardar a nitrificação e minimizar os possíveis impactos negativos decorrentes do excesso de nitrato no solo (TRENKEL, 1997; FRYE, 2005; PIERZYNSKI et al., 2000). Como exemplos de inibidores sintéticos de nitrificação podem ser citados a nitrapirina, a dicianodiamida (DCD) e o 3,4-dimetilpirazole-fosfato (DMPP). Existem também inibidores naturais, como exemplo as substâncias exsudadas no solo por espécies de plantas do gênero *Brachiaria* (SUBBARAO et al., 2003, 2006a, 2006b, 2007a, 2007b, 2008, 2009). Contudo, fatores como o sistema de preparo, tipo de solo e forma de aplicação dos fertilizantes nitrogenados, podem influenciar diretamente na concentração e nas perdas do nitrato do sistema. Robinson et al. (2011) relataram que o suprimento de nitrogênio para a cana-de-açúcar nos três primeiros meses após a fertilização excederam a demanda de N pela

cultura, sendo a quantidade de N exigida durante todo o ciclo da cultura fornecida em uma única aplicação, deixando o nitrato no solo, vulnerável a perdas.

Vários estudos, em condições de laboratório e campo, comprovaram que o íon cloreto, mesmo em baixas concentrações, tem o potencial de inibir a nitrificação do amônio no solo (GOLDEN et al., 1980; WICKRAMASINGHE; RODGERS; JENKINSON 1985; DARRAH; NYE; WHITE, 1987; WADE, 1997; MCGUIRE et al., 1999; CHEN; WONG, 2004). No entanto, o conhecimento a respeito das concentrações exatas do íon cloreto e os detalhes dessa reação no solo são ainda incipientes na literatura. Souri (2010) avaliaram o cloreto de amônio e o cloreto de potássio como potenciais inibidores da nitrificação comparando-os ao 3,4-dimetilpirazole-fosfato (DMPP). O autor constatou que os fertilizantes clorados foram eficientes em retardar o processo de transformação do amônio a nitrato na mesma magnitude do DMPP.

Vieira et al. (2010) avaliaram a aplicação de doses de cloreto de amônio (60, 120 e 180 kg ha⁻¹) como fonte de N em soqueira da cana-de-açúcar e apesar do aumento na produtividade de colmos, verificado no primeiro ano do estudo, houve redução no perfilhamento da cultura com o aumento das doses de N-cloreto de amônio. No ano seguinte, quando foi avaliado o efeito residual dessa fonte no solo, constatou-se significativa redução na produtividade de colmos da cultura. Segundo os autores, como a cana-de-açúcar é considerada moderadamente sensível à salinidade do solo, o decréscimo no perfilhamento, aos 60 dias após a aplicação das doses de N-cloreto de amônio, pode ter sido agravado pelo excesso de sais na rizosfera, com conseqüente redução na produtividade. O limite de tolerância à salinidade depende da concentração do sal em solução, do tempo de exposição, bem como do estágio de desenvolvimento das plantas, sendo a fase inicial do desenvolvimento considerada a mais crítica (SANTANA et al., 2007).

Os efeitos negativos do íon cloreto estão relacionados ao aumento do potencial osmótico da solução do solo, que induz as plantas ao estresse hídrico e ao efeito tóxico direto, principalmente sobre os sistemas enzimáticos e de membranas (FAUCONNIER; BASSEREAU, 1975; MAULE et al., 2001; AYERS; WESTCOT, 1991). Alguns estudos demonstraram o efeito negativo da aplicação do cloreto de amônio na produtividade agrícola (YAHYA, 1998; BETHKE; DREW, 1992; VIEIRA, 2009; LEITE, 2011). Em contrapartida, Vieira et al. (2012) avaliaram a eficiência da adubação nitrogenada comparando fontes de nitrogênio e constataram que a aplicação de cloreto de amônio, na dose de 100 kg ha⁻¹ de N, resultou em mesma eficiência das fontes ureia, nitrato de amônio e sulfato de amônio. O potencial agrícola de utilização do cloreto de amônio como fonte de nitrogênio, também foi

demonstrado por Barati et al. (2006) em experimentos de campo com a cultura do arroz, em que o cloreto de amônio foi aplicado nas doses 50, 100 e 200 kg ha⁻¹ N. Os autores concluíram que o incremento da dose de N-cloreto de amônio aumentou o rendimento de grãos de arroz até a dose de 100 kg ha⁻¹ de N. Dessa forma, o cloreto de amônio parece ser uma fonte promissora de nitrogênio para as culturas, no entanto, deve-se ter cautela quanto aos excessos, especialmente em locais em que as taxas de evapotranspiração das culturas excedem as das precipitações pluviométricas, ocorrendo o acúmulo de sais no solo.

No entanto, é corrente na literatura, que o efeito negativo dos fertilizantes clorados aos microrganismos do solo, devido o aumento do potencial osmótico, tem papel secundário. O íon cloreto e seus derivados no solo têm forte ação oxidante, constituindo-se em um potente biocida (CHEN; WONG, 2004; KANDELER, 1993; WADE, 1997; WONG et al., 1988; CHRISTENSEN et al., 1981), podendo reduzir consideravelmente a população microbiana, principalmente, as bactérias do gênero *Nitrossomona* e *Nitrobacter*, responsáveis pela transformação do amônio a nitrato. Nesse contexto, o trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o potencial do íon cloreto, relacionado à aplicação de cloreto de potássio e cloreto de amônio, como inibidor da nitrificação em Latossolo Vermelho distrófico.

4.2 Material e métodos

O experimento foi desenvolvido em condições de laboratório, no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com nove tratamentos, quatro repetições, em quatro tempos de avaliação, totalizando 144 unidades experimentais. Foram estudadas as combinações das fontes de nitrogênio sulfato de amônio (SA) e cloreto de amônio (CA), na dose de 100 mg kg⁻¹ de nitrogênio, e cloreto de potássio (KCl) nas doses de 100 e 200 mg kg⁻¹ de cloro. Foram avaliadas ainda, a aplicação de três doses de nitrogênio (50, 100 e 200 mg kg⁻¹ de N) como cloreto de amônio (130, 260 e 520 mg kg⁻¹ de cloro), mais o controle (sem adição de cloro e nitrogênio).

As amostras de solo do estudo foram coletadas em um Latossolo Vermelho distrófico argiloso (EMBRAPA, 2006), correspondente a um Typic Hapludox (SOIL SURVEY STAFF, 2010), cultivado com cana-de-açúcar. Na coleta do solo, a palhada da cana-de-açúcar, remanescente na superfície após a colheita, foi removida e amostras simples de solo (10 amostras de 5 kg) foram coletadas na camada de 0-20 cm com trado do tipo holandês, aleatoriamente na área experimental (totalizando uma amostra composta de 50 kg).

A caracterização química do solo foi realizada a partir de subamostras determinando-se: carbono orgânico ($24,8 \text{ g dm}^{-3}$), pH CaCl_2 (4,5), P (27 mg dm^{-3}), K ($2,1 \text{ mmolc dm}^{-3}$), Ca (28 mmolc dm^{-3}), Mg (10 mmolc dm^{-3}), Al (7 mmolc dm^{-3}), H+Al (88 mmolc dm^{-3}), SB ($40,1 \text{ mmolc dm}^{-3}$), CTC ($130 \text{ mmolc dm}^{-3}$), V (31%), m (15%), segundo metodologia descrita em Raij et al. (2001), $\text{S-SO}_4 - \text{NH}_4 \text{ OAc } 0,5\text{N}$ em $\text{HOAc } 0,25\text{N}$ (34 mg dm^{-3}) segundo Vitti (1989) e N-total ($1,7 \text{ g kg}^{-1}$) segundo Barrie e Prosser (1996).

O solo (com umidade natural de 15%) foi destorroado e passado em peneira com malha de 2 mm. A capacidade máxima de retenção de água (CMRA), 40% em peso, foi estimada após a saturação com água deionizada, e pesagem antes e após a secagem em estufa a 105°C por 48 horas (BREMNER; SHAW, 1958). Posteriormente, a umidade do solo foi corrigida para 50% da CMRA. O solo, 4 kg na base seca, foi distribuído em vasos com capacidade de 7 litros, e pré-incubado por um período de 20 dias em ambiente escuro, para restabelecimento da atividade microbiana. A temperatura da sala em que as amostras permaneceram foi monitorada durante todo o período de pré-incubação sendo realizadas as leituras das temperaturas mínima (23°C) e máxima (30°C), sendo a temperatura média de 26°C .

Após o período de pré-incubação, as fontes de nitrogênio (N) e cloro (Cl) foram diluídas em água deionizada, em quantidade suficiente para correção da umidade do solo a 70% da CMRA e incorporadas homogeneamente ao solo. Posteriormente, uma quantidade de 210 g de solo na base úmida (28% em umidade) foi acomodada em potes de plástico com capacidade de 250 mL, vedados com filme plástico na parte superior e posteriormente fechados com tampa de rosca para evitar perdas de água por evaporação. Em seguida, os solos das unidades experimentais foram incubados, por um período de 21 dias, em câmara do tipo BOD –“Biologic oxygen demand” (modelo MA-415, Marconi equipamentos para Laboratório LTDA, Piracicaba, BRA) e mantidos em temperatura de 25°C e a 75% de umidade relativa do ar. A umidade do solo foi monitorada a cada três dias por meio de pesagens dos potes. Nos tempos: 24 horas, 7, 14 e 21 dias após a incubação (d.a.i.) procedeu-se a remoção das formas de N-inorgânico: N-NH_4^+ e $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ e a estimativa da condutividade elétrica da solução do solo. As determinações de carbono (C) da biomassa microbiana foram realizadas após 24 horas e 21 dias de incubação e o pH (em H_2O) após 24 horas.

A extração das formas de N inorgânico do solo foi realizada em subamostra de 50 g em base úmida, com $\text{KCl } 2 \text{ mol L}^{-1}$ (relação solo:solução de 1:5), sob agitação por 30 minutos (CANTARELLA; TRIVELIN, 2001) e determinadas por meio de sistema de análise por injeção em fluxo (FIA). O N-NH_4^+ foi determinado após a formação de amônia em meio

alcalino (NaOH 1,5 M), permeável em membrana hidrofóbica (PTFE), sendo, posteriormente, direcionado para uma cela de condutância e as concentrações obtidas mediante a utilização de curva padrão de KCl 2M (REIS et al., 1997). As formas de N-nítrico ($\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$) foram determinadas após a redução do nitrato a nitrito em coluna de cádmio coperizado, ocorrendo posteriormente reação do nitrito com sulfanilamida e formação de composto nitrogenado, procedendo-se a leitura em espectrofotômetro (GINÉ et al., 1980). Os resultados do N mineral foram corrigidos e expressos em peso de terra seca, após a secagem de subamostras de solo a 105°C em estufa, por 48 horas.

A condutividade elétrica do solo (CE) foi determinada de acordo com metodologia proposta por Raij et al. (2001), a fim de expressar a concentração total de sais na solução do solo. A relação solo:água deionizada foi de 1:5 e os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1}$, após correção dos valores de temperatura do extrato a 25°C. Em seguida, o pH foi determinado nos mesmos extratos utilizados para determinação da condutividade elétrica, tendo sido expresso como pH em H_2O .

O carbono da biomassa microbiana foi determinado por meio do método da fumigação-extração proposto por Vance et al. (1987). Basicamente, seis béqueres por repetição, contendo 20g de solo (sendo três fumigados e três não fumigados), foram transferidos para dessecador juntamente com um béquer contendo água e outro contendo clorofórmio (isento de etanol). As amostras foram mantidas no escuro por 24 horas, a temperatura de 28°C. Após transcorrido esse tempo, o clorofórmio residual foi removido por meio de aspirações sucessivas com bomba de vácuo, e as extrações do C da biomassa microbiana do solo realizadas com 50 mL de K_2SO_4 0,5 M (pH 6,5 a 6,8) na relação solo:solução de 1:4. As amostras foram agitadas com movimento circular a 220 rpm, por 30 minutos, e posteriormente a solução foi filtrada lentamente em filtro de papel. A determinação do conteúdo de carbono foi realizada por dicromatometria (RAIJ et al., 2001).

Os resultados foram submetidos à análise variância utilizando-se o teste F, e as médias comparadas pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Os tratamentos foram comparados dentro de cada tempo de amostragem, realizada ao longo do período experimental.

4.3 Resultados e discussão

Após 24 horas de incubação, a concentração de N-NH_4^+ no controle foi muito baixa, 3 mg kg^{-1} , e durante os 21 dias de incubação não houve aumento líquido de N-amoniaco no solo, ficando os valores próximos a zero (Figura 1). Houve queda na concentração de N-

NH_4^+ no solo nos tratamentos com sulfato de amônio durante todo o período experimental. A redução na concentração de N-NH_4^+ pode ser consequência da rápida nitrificação proporcionada pelas condições do solo, como elevado conteúdo de carbono orgânico e aeração. Segundo diversos autores a nitrificação pode sofrer atraso de 4 a 10 dias, ou até de 2 semanas em solos com baixo conteúdo de matéria orgânica (MULVANEY; KHAN; MULVANEY, 1997; WILLIAMS; JARVIS; DIXON, 1998), isso ocorrendo devido a proliferação de bactérias nitrificadoras ser menor em solos com baixo conteúdo de matéria orgânica (KILLHAM, 1994). Normalmente, há correlação positiva entre a matéria orgânica do solo e a quantidade de biomassa microbiana (CHANDER et al., 1997, HART et al., 1994).

Após 24 horas de incubação, os tratamentos SA + KCl 100 e SA + KCl 200, apresentaram maior concentração de N-NH_4^+ comparado ao tratamento SA, o que pode ser um indicativo de menor nitrificação. Além disso, a maior concentração de amônio pode referir-se a menor atividade microbiana no solo com a adição de KCl, considerando que 24 horas após a aplicação dos tratamentos, o SA apresentou 65 mg kg^{-1} de N-NH_4^+ contra 78 e 88 mg kg^{-1} nos tratamentos SA + KCl 100 e SA + KCl 200, respectivamente. Diversos autores afirmaram que após a adição do N-amônio no solo, ele é rapidamente imobilizado pelos microrganismos (AZAM; IFZAL, 2006; HERRMANN et al., 2005; STE-MARIE; PARÉ, 1999).

Figura 1 – Concentrações de N-amônio no solo em função do tempo relacionadas à aplicação de nitrogênio (N) e Cloro (Cl). SA: sulfato de amônio (100 mg kg^{-1} de N). O número em frente à fonte KCl refere-se a dose de Cl em mg kg^{-1} . Letras iguais, para um mesmo tempo de incubação, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Tempo 24horas (CV: 8,4; ***, DMS: 8,98), 7 dias (CV: 6,9; ***, DMS: 6,55), 14 dias (CV: 6,5; ***, DMS: 4,21), 21 dias (CV: 8,9; ***, DMS: 3,22). ***: significativo ao nível de 1% de probabilidade, DMS: diferença mínima significativa, CV: coeficiente de variação

A menor concentração de N-NH_4^+ no tratamento SA + KCl 200 em relação ao tratamento SA + KCl 100 somente ocorreu após 21 dias de incubação (Figura 1). A queda na concentração de N-NH_4^+ no solo nos tratamentos com aplicação de SA foi consequência da oxidação do N-amoniaco a N-nítrico, sendo a redução na concentração de N-NH_4^+ acompanhada por aumento de N-nítrico durante o período experimental (Figura 2).

Após 24 horas de incubação não foi constatado efeito do KCl na inibição da nitrificação, uma vez que a concentração de $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ no solo foi maior no tratamento SA + KCl 200 ($12,2 \text{ mg kg}^{-1}$), seguido dos tratamentos SA + KCl 100 ($11,3 \text{ mg kg}^{-1}$), SA ($10,1 \text{ mg kg}^{-1}$) e controle ($7,6 \text{ mg kg}^{-1}$) (Figura 2). Esses resultados podem ser um indicativo que a aplicação de potássio, utilizando-se KCl em dose moderada, pode ter efeito benéfico na produção de N-mineral no solo. Souri (2010), avaliou o potencial do KCl como inibidor da nitrificação nas doses 100, 250 e 500 mg kg^{-1} de Cl, e somente verificou redução da concentração de N-nítrico na dose acima de 100 mg kg^{-1} .

Figura 2 – Concentrações de N-nítrico no solo em função do tempo relacionadas à aplicação de nitrogênio (N) e Cloro (Cl). SA: sulfato de amônio (100 mg kg^{-1} de N). O número em frente a fonte KCl refere-se a dose de Cl em mg kg^{-1} . Letras iguais, para um mesmo tempo de incubação, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Tempo 24horas (CV: 3,0; ***, DMS: 0,564), 7 dias (CV: 3,4; ***, DMS: 0,99), 14 dias (CV: 5,7; ***, DMS: 3,52), 21 dias (CV: 1,3; ***, DMS: 1,54). ***: significativo ao nível de 1% de probabilidade, DMS: diferença mínima significativa, CV: coeficiente de variação

As concentrações de N-NH_4^+ no solo com aplicação de N-cloreto de amônio também diminuíram em todos os tratamentos durante o período experimental (Figura 3). Após 7, 14 e 21 dias de incubação, a concentração no tratamento CA+ KCl 200 foi maior do que nos tratamentos CA e CA + KCl 100, o que pode ser um indicativo de menor nitrificação no

solo. Mariano (2010) avaliou a variação temporal do N inorgânico em Latossolo Vermelho distrófico argiloso, relacionada à aplicação de fontes de N em soqueira de cana-de-açúcar. Segundo o autor, a baixa concentração de N-NO_3^- observada no solo após aplicação de cloreto de amônio poderia estar relacionado ao íon Cl^- , que possui a capacidade de inibir, consideravelmente, o processo de nitrificação em solos (JOHNSON; GUENZI, 1963; ARGAWAL; SINGH; KANEHIRO, 1971).

Figura 3 – Concentrações de amônio no solo em função do tempo relacionadas à aplicação de nitrogênio (N) e Cloro (Cl). CA: cloreto de amônio (100 mg kg^{-1} de N). O número em frente a fonte KCl refere-se a dose de Cl em mg kg^{-1} . Letras iguais, para um mesmo tempo de incubação, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Tempo 24 horas (CV: 2,4; ***, DMS: 3,0), 7 dias (CV: 4,5; ***, DMS: 5,2), 14 dias (CV: 3,8; ***, DMS: 3,4), 21 dias (CV: 4,0; ***, DMS: 2,64). ***: significativo ao nível de 1% de probabilidade, DMS: diferença mínima significativa, CV: coeficiente de variação

Após 24 horas de incubação o tratamento CA + KCl 100 ($13,7 \text{ mg kg}^{-1}$) apresentou maior concentração de N-nítrico comparado aos tratamentos CA ($12,4 \text{ mg kg}^{-1}$) e CA + KCl 200 ($12,3 \text{ mg kg}^{-1}$) (Figura 4). Aos 7, 14 e 21 dias de incubação as concentrações de N-nítrico do tratamento CA foram superiores aos tratamentos com adição de KCl, sendo que o aumento na dose de KCl resultou em redução na concentração de $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ no solo. Após 21 dias de incubação, a concentração de N-nítrico no solo no tratamento CA + KCl 200 foi de $57,4 \text{ mg kg}^{-1}$ (Figura 4) comparativamente a $77,9 \text{ mg kg}^{-1}$ do tratamento SA + KCl 200 (Figura 2). Esses resultados reforçam a hipótese de que elevadas concentrações de cloro no solo resultam na inibição da nitrificação. Golden et al. (1980) estudaram o efeito do cloreto de potássio na nitrificação do N-sulfato de amônio em Podzólico Vermelho Amarelo ácido. Os autores verificaram que a adição de KCl efetivamente diminuiu a nitrificação. Após dois

meses de incubação havia maior concentração de N-NH_4^+ nos tratamentos com KCl do que nos tratamentos sem a aplicação da fonte. Segundo os autores, a maior concentração de amônio ocorreu em razão da menor nitrificação e, atribuíram o efeito ao ânion cloreto.

Figura 4 – Concentrações de N-nítrico no solo em função do tempo relacionadas à aplicação de nitrogênio (N) e, ou Cloro (Cl). CA: cloreto de amônio (100 mg kg^{-1} de N). O número em frente a fonte KCl refere-se a dose de Cl em mg kg^{-1} . Letras iguais, para um mesmo tempo de incubação, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Tempo 24 horas (CV: 3,4; ***, DMS: 0,83), 7 dias (CV: 2,1; ***, DMS: 0,77), 14 dias (CV: 2,2; ***, DMS: 1,67), 21 dias (CV: 2,7; ***, DMS: 3,47). ***: significativo ao nível de 1% de probabilidade, DMS: diferença mínima significativa, CV: coeficiente de variação

O aumento das doses de N-cloreto de amônio (N-CA) foi acompanhado por aumento nas concentrações de N-NH_4^+ no solo durante todo o período experimental (Figura 5). Após 24 horas de incubação a ordem crescente de concentração de N-NH_4^+ no solo foi: 44; 82 e 184 mg kg^{-1} , respectivamente, para as doses 50, 100 e 200 mg kg^{-1} de N-CA. A concentração de N-NH_4^+ de cerca de três vezes maior para a dose de 200 mg kg^{-1} de N-CA em relação a dose de 100 mg kg^{-1} , é um forte indicativo do efeito inibidor da nitrificação causado pela concentração de cloro no solo.

Uma das consequências da elevada concentração de sais no solo, é a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio, tais como: superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), hidroxila ($\text{OH}^\cdot$) e oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1985; THOMPSON et al., 1987). Estas espécies podem ter ação citotóxica, causando danos oxidativos aos lipídios (FRIDOVICH, 1986; WISE; NAYLOR, 1987), proteínas e ácidos nucléicos (FRIDOVICH, 1986; IMLAY; LINN, 1988). De acordo com Chen e Wong (2004), o íon cloreto atua como um forte agente oxidante, constituindo-se em potente biocida. Em estudos realizados por Kandeler (1993), mesmo em baixa concentração no solo (7 mM), o cloreto foi capaz de

inibir a oxidação do N-NO_2^- a N-NO_3^- , devido a ação tóxica em bactérias nitrificadoras. Segundo McGuire et al. (1999), o íon clorito (ClO_2^-), em apenas algumas horas e, mesmo em concentrações muito baixas no solo ($0,05 \text{ mg L}^{-1}$), pode inativar a capacidade das bactérias em oxidar amônia, e em concentrações elevadas esse efeito pode ocorrer em até 30 minutos. A ação biocida dos compostos clorados pode estar relacionada à formação de ácido hipocloroso (HClO), que é um forte agente oxidante, danificando pontos ativos de certos grupos orgânicos essenciais a respiração celular. Em adição, ao reagir com a amônia, o cloro forma compostos chamados cloraminas, que possuem ação biocida (DREW; BROCKLEHURST, 1984; GRAY, 1994).

Figura 5 – Concentrações de amônio no solo em função do tempo relacionadas à aplicação de doses de N como cloreto de amônio. Letras iguais, dentro de um mesmo tempo, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Tempo 24 horas (CV: 5,2; ***, DMS: 8,54), 7 dias (CV: 6,1; ***, DMS: 8,12), 14 dias (CV: 5,1; ***, DMS: 5,18), 21 dias (CV: 2,1; ***, DMS: 1,76). ***: significativo ao nível de 1% de probabilidade, DMS: diferença mínima significativa, CV: coeficiente de variação

Após 24 horas de incubação as concentrações de $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ no solo foram de 15; 12 e 11 mg kg^{-1} , respectivamente, para as doses 50, 100 e 200 mg kg^{-1} de N-cloreto de amônio (Figura 6). Após 7 e 14 dias de incubação as concentrações de N-nítrico no solo para a dose de 50 mg kg^{-1} foram duas vezes maior do que os valores encontrados no solo com a adição de 200 mg kg^{-1} de N-cloreto de amônio. Esses resultados corroboram com os encontrados por Souri (2010), que avaliou a concentração de N-nítrico em solo com baixo conteúdo de matéria orgânica e após a aplicação de doses de KCl ($100, 250$ e 500 mg kg^{-1} de Cl). O autor verificou que após 5 semanas de incubação as concentrações de N-nítrico no solo foram significativamente menores nas doses de 250 e 500 mg kg^{-1} comparado ao controle.

As concentrações de $N-(NO_3^- + NO_2^-)$ foram de aproximadamente 79; 82 e 64 $mg\ kg^{-1}$ para as doses 50, 100 e 200 $mg\ kg^{-1}$ de N-cloreto de amônio respectivamente, após 21 dias de incubação (Figura 6). Fazendo-se uma análise comparativa, as concentrações de $N-(NO_3^- + NO_2^-)$ no solo após 21 dias de incubação nos tratamentos SA + KCl 200, contendo 200 $mg\ kg^{-1}$ de Cl^- (Figura 2), CA + KCl 200, com 460 $mg\ kg^{-1}$ de Cl^- (Figura 4) e 200 $mg\ kg^{-1}$ de N-cloreto de amônio, sendo adicionados 520 $mg\ kg^{-1}$ de Cl^- (Figura 6) foram, respectivamente, de 78, 58 e 64 $mg\ kg^{-1}$. Esses resultados dão indicação que em solo com aplicação de fonte de N contendo cloro, associado ao KCl há inibição da nitrificação no solo.

Figura 6 – Concentrações de N-nítrico no solo em função do tempo relacionadas à aplicação de doses de N como cloreto de amônio. Letras iguais, dentro de um mesmo tempo, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Tempo 24 horas (CV: 3,5; ***, DMS: 0,83), 7 dias (CV: 2,2; ***, DMS: 0,87), 14 dias (CV: 4,4; ***, DMS: 3,65), 21 dias (CV: 3,0; ***, DMS: 3,92). ***: significativo ao nível de 1% de probabilidade, DMS: diferença mínima significativa, CV: coeficiente de variação

As concentrações de carbono da biomassa microbiana (C-biomassa) após 24 horas de incubação foram maiores nos tratamentos com adição de KCl (Figura 7). O cloreto de potássio, em dose moderada, parece ter efeito benéfico no aumento da biomassa microbiana do solo. O efeito benéfico do cloreto de potássio no aumento da biomassa microbiana pode estar relacionado à ativação de uma série de enzimas essenciais ao metabolismo dos microrganismos, das quais o potássio é cofator e, também, pela regulação do potencial osmótico nas células (MADIGAN et al., 1997). Em adição, segundo Epstein e Bloom (2006) o potássio é um dos responsáveis por regular o pH interno da célula dos microrganismos.

Houve aumento substancial do C da biomassa no solo após 21 dias de incubação do solo, não havendo, porém, diferença entre os tratamentos. Como discutido anteriormente,

Souri (2010) considerou baixa a dose de 100 mg kg^{-1} de cloro aplicado ao solo como KCl, indicando que o efeito inibidor do KCl na nitrificação ocorreu em doses acima de 250 mg kg^{-1} de Cl.

Figura 7 – Concentrações decarbono da biomassa microbiana no solo, em função do tempo, relacionadas à aplicação de nitrogênio (N) e Cloro (Cl). SA: sulfato de amônio (100 mg kg^{-1} de N). O número em frente a fonte KCl refere-se a dose de Cl em mg kg^{-1} . Letras iguais, dentro de um mesmo tempo, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Tempo 24 horas (CV: 4,5; ***, DMS: 17,9), 21 dias (CV: 5,4; ns, DMS: 65,3). ns, ***: não significativo e significativo ao nível de 1% de probabilidade, respectivamente. DMS: diferença mínima significativa, CV: coeficiente de variação

Para o tempo de 24 horas de incubação, a adição de N-cloreto de amônio associada ao KCl, nas doses de 100 ou 200 mg kg^{-1} de Cl, promoveu redução na concentração de carbono da biomassa microbiana (Figura 8). Os resultados apresentados nas figuras 7 e 8 reforçam a evidência de que a aplicação ao solo de KCl combinado ao N-cloreto de amônio tem maior potencial biocida do que a aplicação de KCl combinado ao N-sulfato de amônio. Após 21 dias de incubação o tratamento CA + KCl 200 apresentou maior concentração de C-biomassa comparado ao tratamento CA. Dessa forma, o efeito biocida do cloro no solo sobre a biomassa microbiana parece ter efeito em curto prazo após a aplicação das fontes e sendo o efeito minimizado com o tempo. Este fenômeno refere-se ao tempo de resiliência no solo, ou seja, a capacidade dos microrganismos se adaptarem as condições do meio, tornando-se resistente a determinada condição que inicialmente exercia efeito negativo.

Figura 8 – Concentrações de carbono da biomassa microbiana no solo em função do tempo, relacionadas à aplicação de nitrogênio (N) e Cloro (Cl). CA: cloreto de amônio (100 mg kg⁻¹ de N). O número em frente a fonte KCl refere-se a dose de Clem mg kg⁻¹. Letras iguais, dentro de um mesmo tempo, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Tempo 24 horas (CV: 2,7; ***, DMS: 17,7), 21 dias (CV: 5,7; ***, DMS: 84,4). ***: significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS: diferença mínima significativa, CV: coeficiente de variação

A concentração de C da biomassa microbiana foi maior na dose de 200 mg kg⁻¹ de N-cloreto de amônio após 24 horas da aplicação das doses de N-cloreto de amônio (Figura 9). Essa maior concentração de C da biomassa microbiana no solo pode ser o resultado do aumento na atividade microbiana causada pela adição de elevada dose de N no solo. Esse efeito é conhecido como “priming”, ou seja, em existindo fonte de C, os microrganismos imobilizam o N-fertilizante para mineralizar a matéria orgânica presente no solo ocorrendo, portanto, aumento imediato na atividade e na proliferação da biomassa microbiana (JENKINSON et al., 1985). Após 21 dias de incubação não houve efeito das doses de N-cloreto de amônio na concentração de carbono da biomassa microbiana.

Figura 9 – Concentrações de carbono da biomassa microbiana em função do tempo, relacionadas à aplicação de doses de N como cloreto de amônio. Letras iguais, dentro de um mesmo tempo, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Tempo 24 horas (CV: 1,9; ***, DMS: 17,0), 21 dias (CV: 8,4; ns, DMS: 113,3). ns, ***: não significativo e significativo ao nível de 1% de probabilidade, respectivamente. DMS: diferença mínima significativa, CV: coeficiente de variação

A condutividade elétrica (CE) no solo aumentou com a adição das fontes de N e de Cl (Figura 10). De forma geral, durante o período de incubação, a condutividade variou de 81 a 168 $\mu\text{S cm}^{-1}$ no controle, enquanto no tratamento SA + KCl 200 os valores variaram de 274 a 425 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Segundo Darrah et al. (1987), com o aumento do potencial osmótico, causado pelo aumento da concentração de sais na solução do solo, ocorre decréscimo na nitrificação pela redução na atividade dos microrganismos nitrificadores (DARRAH; NYE; WHITE, 1985; MONAGHAN; BARRACLOUGH, 1991). Por outro lado, Golden et al. (1980) afirmaram que o aumento do potencial osmótico no solo causado pelo aumento da concentração de sais tem papel secundário na atividade microbiana, considerando que o íon cloreto atua como um forte agente oxidante e potencial biocida no solo.

Figura 10 – Condutividade elétrica no solo em função do tempo, relacionada à aplicação de nitrogênio (N) e cloro (Cl). O número em frente a fonte KCl refere-se a dose de Cl em mg kg^{-1} . Letras iguais, dentro de um mesmo tempo, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Tempo 24 horas (CV: 18,8; ***, DMS: 90,6), 7 dias (CV: 12,4; ***, DMS: 51,5), 14 dias (CV: 5,1; ***, DMS: 30,4), 21 dias (CV: 5,1; ***, DMS: 28,3). ***: significativo ao nível de 1% de probabilidade, DMS: diferença mínima significativa, CV: coeficiente de variação

Figura 11 – Condutividade elétrica do solo em função do tempo relacionada à aplicação de nitrogênio (N) e cloro (Cl). O número em frente a fonte KCl refere-se a dose de Cl em mg kg^{-1} . Letras iguais, dentro de um mesmo tempo, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Tempo 24 horas (CV: 19,5; ***, DMS: 116,2), 7 dias (CV: 14,4; ***, DMS: 84,4), 14 dias (CV: 6,2; ***, DMS: 51,3), 21 dias (CV: 3,8; ***, DMS: 27,5). ***: significativo ao nível de 1% de probabilidade, DMS: diferença mínima significativa, CV: coeficiente de variação

O aumento da CE, assim como ocorreu com a aplicação de sulfato de amônio combinado ao KCl (Figura 10), também foi observado com a aplicação de cloreto de amônio (Figura 11). No entanto, destaque-se que para o tratamento SA + KCl 200 a CE média, durante todo o período experimental, foi de $369 \mu\text{S cm}^{-1}$, enquanto para o tratamento CA + KCl 200 foi de $496 \mu\text{S cm}^{-1}$. Segundo alguns autores o cloreto aumenta a pressão osmótica da solução do solo mais do que outros ânions, como por exemplo o sulfato (DARRAH; NYE; WHITE, 1987; GOLDEN et al., 1980). Portanto, a elevação excessiva da pressão osmótica causada pelo aumento da concentração do cloreto em solução pode efetivamente inibir a nitrificação (DARRAH; NYE; WHITE, 1987; LOW; STARK; DUDLEY, 1997).

Wade (1997) estudou o efeito de concentrações de sais no controle do fungo *Rhizoctonia* em beterraba (*Betavulgaris*L.) e concluiu que o cloro pode ser usado como antibiótico para o controle dessa doença. Christensen et al. (1981) verificaram que a podridão radicular em trigo (*Triticum* spp.) foi reduzida com a aplicação de fertilizante clorado. Os autores sugeriram que o estresse hídrico provocado nas plantas, pelo aumento do potencial osmótico após aplicação do fertilizante clorado, foi o responsável por minimizar os níveis de infestação da doença, tendo em vista que os fungos causadores da podridão radicular decresceram quando ocorreu perda significativa de água pelas plantas.

As correlações entre a concentração de N-NH_4^+ no solo e a CE indicaram que o aumento das doses de CA relaciona-se diretamente com o aumento da condutividade elétrica do solo (Figura 12). Vale lembrar que o aumento nas doses de N-cloreto de amônio no solo foi acompanhado por redução na concentração de N-NO_3^- (Figura 6), o que dá forte indicação do efeito prejudicial do elevado potencial osmótico na solução do solo na atividade das bactérias nitrificadoras. Entretanto, mesmo em concentrações muito fraca de cloro na solução do solo, alguns autores verificaram inibição da nitrificação do N-amônio, o que não parece ser um efeito apenas devido ao aumento do potencial osmótico (DARRAH; NYE; WHITE, 1987; GOLDEN et al., 1980). Souri (2010) compararam o cloreto de potássio (KCl) e o cloreto de amônio (NH_4Cl) ao 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP), para verificar o potencial de inibição da nitrificação, em solo com baixo conteúdo de matéria orgânica. Esses autores constataram que o cloreto do KCl e do NH_4Cl inibiram a nitrificação tanto quanto a aplicação do DMPP. O autor também verificou que com o aumento da concentração de cloro na solução do solo (100, 250 e 500 mg kg^{-1}) houve redução na concentração de N-nitrato em relação ao controle (sem aplicação de cloro).

Figura 12 – Condutividade elétrica do solo em função da concentração de amônio, relacionada à aplicação de doses de N como cloreto de amônio, após 24 horas (a), 7 dias (b), 14 dias (c) e 21 dias (d)

Após 24 horas da aplicação das doses de N-cloreto de amônio a concentração de N-NH_4^+ no solo apresentou relação inversa com o pH do solo (Figura 13). O aumento do N-amoniaco no solo reduz o pH devido o processo de nitrificação. Com a passagem de N-NH_4^+ a N-NO_2^- ocorre a liberação de dois prótons (H^+), acidificando o meio. Wickramasinghe, Rodgers e Jenkinson (1985) avaliaram o efeito de inibidores de nitrificação e sais inorgânicos em solos ácidos e neutros. Segundo os autores a adição de doses de KCl diminuiu o pH dos solos (ácidos e neutros), reduzindo a atividade de microrganismos nitrificadores que atuavam em uma faixa ótima de pH. Pang et al. (1973) afirmaram que sob elevadas concentrações de amônia ou amônio na solução do solo ocorre forte inibição da nitrificação. Esse efeito pode ocorrer em função dos vários desarranjos metabólicos nas células dos microrganismos, causados por toxidez de amônia.

Figura 13 – pH do solo em função da concentração de amônio, relacionado à aplicação de doses de N-cloreto de amônio, após 24 horas da aplicação de doses de cloreto de amônio

4.4 Conclusões

O íon cloreto adicionado ao solo por meio de cloreto de potássio e/ou cloreto de amônio reduziu a concentração de nitrato devido a ação do ânion na reação de nitrificação.

A combinação das fontes de cloreto de amônio e cloreto de potássio resultou em maior inibição na reação de nitrificação.

O aumento da concentração de cloro no solo devido a aplicação de doses de cloreto de amônio promoveu redução progressiva na nitrificação.

Referências

ARGAWAL, A.S.; SINGH, B.R.; KANEHIRO, Y. Ionic effects of salts on mineral nitrogen release in an allophonic soil. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 35, p. 454-457, 1971.

AYERS, R.S.; WESTCOT, D.W. **A qualidade da água na agricultura**. Campina Grande: UFPB, 1991. 218 p. (Estudos FAO. Irrigação e Drenagem, 29).

AZAM, F.; IFZAL, M. Microbial populations immobilizing NH₄⁺-N and NO₃⁻-N differ in their sensitivity to sodium chloride salinity in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 38, p. 2491-2494, 2006.

BARATI, V.; EMAM, Y.; MAFTOUN, M. Responses of two lowland: rice cultivars to the different sources and levels of nitrogen. **Agrochimica**, Iran, v. 50, p. 158-164, 2006.

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.

BETHKE, P.C.; DREW, M.C. Stomatal and non-stomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of *Capsicum annuum* during progressive exposure to NaCl salinity. **Plant Physiology**, Rockville, v. 99, p. 219–226, 1992.

BREMNER, J.M.; SHAW, K. Denitrification in soil: II. Methods of investigation. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 51, p. 22-39, 1958.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O. Determinação de nitrogênio inorgânico em solo pelo método da destilação a vapor. In: _____. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. cap. 19, p. 270-276.

CHANDER, K.; GOYAL, S.; MUNDRA, M.C.; KAPOOR, K.K. Organic matter, microbial biomass, and enzyme activity of soils under different crop rotations in the tropics. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 24, p. 306–310, 1997.

CHEN, G.H.; M. WONG, T. Impact of increased chloride concentration on nitrifying activated sludge cultures. **Journal of Environmental Engineering**, Reston, v. 130, p. 116–125, 2004.

CHRISTENSEN, N.W.; TAYLOR, R.G.; JACKSON, T.L.; MITCHELL, B.L. Chloride effects on water potentials and yield of winter wheat infected with take-all root rot. **Agronomy Journal**, Madison, v. 73, p. 1053-1058, 1981.

DARRAH, P.R.; NYE, P.H.; WHITE, R.E. Modelling growth responses of soil nitrifiers to additions of ammonium sulfate and ammonium chloride. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 86, p. 425–439, 1985.

_____. The effect of high solute concentrations on nitrification rates in soil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 97, p. 37–45, 1987.

DREW, R.L.K.; BROCKLEHURST, P.A. The effect of sodium hypochlorite on germination of lettuce seed at high temperature. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 35, p. 975-985, 1984.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Produção de informação; Rio de Janeiro: EMBRAPA Solos, 2006. 412 p.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2. ed. Londrina: Planta, 2006. 402 p.

FAUCONNIER, R.; BASSEREAU, D. **La caña de azúcar: técnicas agrícolas y producciones tropicales**. Barcelona: Blume, 1975. 433 p.

FRIDOVICH, I. Biological effects of the superoxide radical. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 247, p. 1–11, 1986.

FRYE, W.W. Nitrification inhibition for nitrogen efficiency and environment protection. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON ENHANCED-EFFICIENCY FERTILIZERS, Frankfurt, 2005. **Proceedings...** Paris: International Fertilizer Industry Association, 2005. 1 CR-ROM.

GINÉ, M.F.; BERGAMIN FILHO, H.; ZAGATTO, E.A.G.; REIS, B.F. Simultaneous determination of nitrate and nitrite by flows injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, New York, v. 114, p. 191-197, 1980.

GOLDEN, D.C.; SIVASUBRAMANIAM, S.; SANDANAM, S.; WIJEDASA, M.A. Inhibitory effects of commercial potassium chloride on the nitrification rates of added ammonium sulfate in an acid red yellow podzolic soil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 59, p. 147-151, 1980.

GRAY, N. F. **Calidad del agua potable**. Zaragoza: Acribia, 1994. 365 p.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford: Clarendon Press, 1985. 543 p.

HART, S.C.; NASON, G.E.; MYROLD, D.D.; PERRY, D.A. Dynamics of gross nitrogen transformations in an old-growth forest: the carbon connection. **Ecology**, Washington, v. 75, p. 880-891, 1994.

HERRMANN, A.; WILLETT, V.B.; STOCKDALE, E.A.; JONES, D.L. Interference by amino acids during the determination of ¹⁵N ammonium in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 37, p. 1747-1750, 2005.

IMLAY, J.A.; LINN, S. DNA damage and oxygen radical toxicity. **Science**, Washington, v. 240, p. 1302-1309, 1988.

JENKINSON, D.S.; FOX, R.H.; RAVNER, J.H. Interactions between fertilizer nitrogen and soil nitro: gen-the so-called 'priming' effect. **Journal of Soil Science**, Oxford, v. 36, p. 425-444, 1985.

JOHNSON, D.D.; GUENZI, W.D. Influence of salts on ammonium oxidation and carbon dioxide evolution from soil. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 27, p. 663-666, 1963.

KANDELER, E. **Bodenbiologische Arbeitsmethoden**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1993. 377 p.

KILLHAM, K. **The nitrogen cycle**. In **Soil ecology**. New York: Cambridge University Press, 1994. 242 p.

LEITE, J.M. **Acúmulo de fitomassa e de macronutrientes da cana-de-açúcar relacionadas ao uso de fontes de nitrogênio**. 2011. 90 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

LOW, A.P.; STARK, J.M.; DUDLEY, L.M. Effects of soil osmotic potential on nitrification, ammonification, N-assimilation, and nitrous oxide production. **Soil Science**, Baltimore, v. 162, p. 16–27, 1997.

MADIGAN, M.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. **Brock biology of microorganisms**. 8th ed. Prentice Hall: Englewood Cliffs, 1997. 1038 p.

MARIANO, E. **Mineralização e disponibilidade de nitrogênio em solos cultivados com cana-de-açúcar**. 2010. 92 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

MAULE, R.F.; MAZZA, A.J.; MARTHAR JÚNIOR, G.B. Produtividade agrícola de cultivares de cana-de-açúcar em diferentes solos e épocas de colheita. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, p. 295-301, 2001.

MCGUIRE, M. J.; LIEU, N. I.; PEARTHREE, M. S. Using chlorite ion to control nitrification. **Journal of the American Water Works Association**, New York, v. 91, p. 52–61, 1999.

MONAGHAN, R.M.; BARRACLOUGH, D. Some chemical and physical factors affecting the rate and dynamics of nitrification in urine-affected soil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 143, p. 11–18, 1991.

MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A.; MULVANEY, C.S. Nitrogen fertilizers promote denitrification. **Biology and Fertility of Soil**, Berlin, v. 24, p. 211–220, 1997.

PANG, P.C.; HEDLIN, R.A.; CHO, C.M. Transformation and movement of band applied urea, ammonium sulfate, and ammonium hydroxide during incubation in several Manitoba soils. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 53, p. 331–341, 1973.

PIERZYNSKI, G.M.; THOMAS, S.; VANCE, G.F. **Soils and environmental quality**. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2000. 459 p.

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

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.

ROBINSON, N.; BRACKIN, R.; VINALL, K.; SOPER, F.; HOLST, J. Nitrate paradigm does not hold up for sugarcane. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 6, p. 1-9, 2011.

SANTANA, M.J.; CARVALHO, J.A.; SOUZA, K.J.; SOUSA, A.M.G.; VASCONCELOS, C.L.; ANDRADE, L.A.B. Efeitos da salinidade da água de irrigação na brotação e desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) e em solos com diferentes níveis texturais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p. 1470-1476, 2007.

SOIL SURVEY STAFF. **Keys to soil taxonomy**. 11th ed. Washington: USDA, Natural Resources Conservation Service, 2010. 344 p.

SOURI, M.K. Effectiveness of chloride compared to 3,4-dimethylpyrazole phosphate on nitrification inhibition in soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 41, p. 1769-1778, 2010.

STE-MARIE, C.; PARÉ, D. Soil, pH, and N availability effects on net nitrification in the forest floors of a range of boreal forest stands. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 31, p. 1579–1589, 1999.

SUBBARAO, G.V.; ISHIKAWA, T.; ITO, O.; OKADA, K. Suppression of nitrification and nitrous oxide emission by the tropical grass *Brachiaria humidicola*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.255, p. 413–419, 2003.

SUBBARAO, G.V.; WANG, H. Y.; ITO, O.; NAKAHARA, K.; BERRY, W. L. NH_4^+ triggers the synthesis and release of biological nitrification inhibition compounds in *Brachiaria humidicola* roots. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 290, p. 245–257, 2007a.

SUBBARAO, G.V.; ISHIKAWA, T.; ITO, O.; NAKAHARA, K.; WANG, H. Y.; BERRY, W. L. A bioluminescence assay to detect nitrification inhibitors released from plant roots: a case study with *Brachiaria humidicola*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 288, p. 101–112, 2006a.

SUBBARAO, G.V.; RONDON, M.; ITO, O.; ISHIKAWA, T.; RAO, I. M.; NAKAHARA, K.; LASCANO, C.; BERRY, W.L. Biological nitrification inhibition (BNI)—is it a widespread phenomenon? **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 294, p. 5–18, 2007b.

SUBBARAO, G.V.; ITO, O.; SAHRAWAT, K.; BERRY, W.; NAKAHARA, L.; K.; ISHIKAWA, T.; WATANABE, T.; SUENAGA, K.; RONDON, M.; RAO, I. Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems: Challenges and opportunities. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 25, p. 303–335. 2006b.

SUBBARAO, G.V.; NAKAHARA, K.; ISHIKAWA, T.; YOSHIHASHI, T.; ITO, O.; ONO, H.; OHNISHI-KAMEYAMA, M.; YOSHIDA, M.; KAWANO, N.; BERRY, W.L. Free fatty acids from the pasture grass *Brachiaria humidicola* and one of their methyl esters as inhibitors of nitrification. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 313, p. 89–99, 2008.

SUBBARAO, G.V.; NAKAHARA, K.; HURTADOB, M. P.; ONO, H.; MORETA, D. E.; SALCEDO, 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 Sciences of the USA**, Washington, v. 106, p. 17302–17307, 2009.

THOMPSON, J.E.; LEDGE, R.L.; BARBER, R.F. The role of free radicals in senescence and wounding, **New Phytologist**, London, v. 105, p. 317–344, 1987.

TRENKEL, M. E. **Improving fertilizer use efficiency: controlled-release and stabilized fertilizers in agriculture**. Paris: International Fertilizer Industry Association, 1997. 151 p.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. Na extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology & Biochemistry**., Oxford, v. 19, p. 703-707, 1987.

VIEIRA, M.X. **Eficiência agronômica da adubação de soqueira de cana-de-açúcar com cloreto de amônio**. 2009. 134 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

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

VIEIRA-MEGDA, M.X.; TRIVELIN, P.C.O.; FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; VITTI, A.C. Eficiência agronômica de adubos nitrogenados em soqueira de cana-de-açúcar colhida sem queima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.47, p.1681-1690, dez. 2012.

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

WADE, H.E. Influence of chloride and nitrogen form on rhizoctonia root and crown rot of table beets. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, p. 635–640, 1997.

WICKRAMASINGHE, K.N.; RODGERS, G.A.; JENKINSON, D.S. Nitrification in acid tea soils and a neutral grassland soil: Effects of nitrification inhibitors and inorganic salts. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 17, p. 249–252, 1985.

WILLIAMS, P.H.; JARVIS, S.C.; DIXON, E. Emission of nitric oxide and nitrous oxide from soil under field and laboratory conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 30, p. 1885–1893, 1998.

WISE, R.R.; NAYLOR, A.W. Chilling-enhanced photooxidation: evidence for the role of singlet oxygen and endogenous antioxidants. **Plant Physiology**, London, v. 83, p. 278–282, 1987.

WONG, C.E.; LI, Y.; WHITTY, B.R.; DIAZ-CAMINO, C.; IMLAY, J.A.; LINN, S. DNA damage and oxygen radical toxicity. **Science**, Washington, v. 240, p. 1302–1309, 1988.

YAHYA, A. Salinity effects on growth and on uptake and distribution of sodium and some essential mineral nutrients in sesame. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 21, p. 1439-1451, 1998.

5 TRANSFORMAÇÕES DO NITROGÊNIO NO SOLO RELACIONADAS A APLICAÇÃO DE FONTES MINERAIS NITROGENADAS E/OU INCORPORAÇÃO DE RESÍDUO CULTURAL DE CANA-DE-AÇÚCAR

Resumo

Para o melhor aproveitamento da adubação com nitrogênio pelas culturas é necessário amplo entendimento da dinâmica desse nutriente no solo. A estimativa de mineralização pode ser utilizada para ajustar as recomendações da adubação nitrogenada, uma vez que o N das frações mais lábeis é liberado nos períodos iniciais do processo de mineralização. Assim posto, foi objetivo do trabalho avaliar as mudanças nas taxas de mineralização e imobilização do N em função da aplicação de fontes de N e da incorporação de resíduo vegetal de elevada relação C/N. O experimento foi conduzido em condições de laboratório, por incubação aeróbia em um período de 20 semanas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com seis tratamentos, oito tempos de avaliação e três repetições, totalizando 144 unidades experimentais. Os fertilizantes nitrogenados (enriquecidos com 2% em átomos de ^{15}N) foram aplicados superficialmente no solo na forma amoniacal - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ou amídica - $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, na dose de 100 mg kg^{-1} de N e a dose de resíduo de cana-de-açúcar incorporada ao solo na dose de $5,2 \text{ g kg}^{-1}$ de solo (referente a 15 Mg ha^{-1} de fitomassa seca de parte aérea de cana-de-açúcar). A incorporação de resíduo de cana-de-açúcar ao solo promoveu aumento das taxas de imobilização do nitrogênio mineral disponível no solo. O nitrogênio da fonte sulfato de amônio apresentou maiores taxas de imobilização na fração orgânica total do solo, porém, com maior mineralização do nitrogênio nativo do solo. O nitrogênio da fonte ureia apresentou maiores taxas de imobilização na fração de N orgânico hidrolisável do solo e menores taxas de mineralização do nitrogênio nativo do solo.

Palavras-chave: *Saccharum* spp.; Nitrogênio orgânico hidrolisado; Illinois Soil Nitrogen Test; Sulfato de amônio; Ureia; Imobilização; Mineralização; Técnica isotópica

Abstract

For better utilization of fertilization with nitrogen by crops is necessary broad understanding of the dynamics of this nutrient in soil. The estimate of mineralization can be used to adjust the nitrogen fertilization recommendations, since N of the more labile fraction is released at the initial periods of the mineralization process. Thus, aim of this study was to evaluate changes in rates of mineralization and immobilization-N due to the application of N sources and the incorporation of plant residue of high C/N ratio. The experiment was carried out under aerobic incubating for a period of 20 weeks. The experimental design was completely randomized with six treatments, three replications and eight evaluation times, amounting 144 experimental units. Nitrogen fertilizers (enriched with 2 atom % ^{15}N) were applied on soil surface as ammonium or amidic-N at dose of 100 mg N kg^{-1} and the sugarcane residue at dose of 5.2 g kg^{-1} incorporated into the soil (referring to 15 Mg ha^{-1} of dry matter of sugarcane shoots). The residue incorporation of sugarcane to the soil increased immobilization rates of available mineral nitrogen in soil. The nitrogen from ammonium sulfate showed higher immobilization rates in total soil organic fraction, but higher nitrogen mineralization from soil native nitrogen. The nitrogen from urea source showed higher

immobilization rates in the fraction of soil organic nitrogen and lower rates of nitrogen mineralization from soil native nitrogen.

Keywords: *Saccharum* spp; Organic nitrogen hydrolysable; Illinois Soil Nitrogen Test; ^{15}N ; Ammonium sulfate; Mineralization; Immobilization; Urea; Isotopic N

5.1 Introdução

Após mais de duas décadas desde a implantação da colheita de cana-de-açúcar mecanizada sem queima (cana crua), o manejo da adubação nitrogenada ainda passa por adaptações. Além das dificuldades encontradas na incorporação dos fertilizantes no solo, especialmente no caso de fontes amídicas, com a adição de resíduos culturais ao solo (10 a 20 Mg ha^{-1}), o equilíbrio entre a mineralização e imobilização do N é afetada, já que ambos os processos ocorrem simultaneamente. A palhada residual da cana-de-açúcar, que possui elevada relação C/N, poderá acentuar a imobilização do N inorgânico disponível no solo para sustentar o crescimento da população de microrganismos, promovido pela abundância de C como fonte de energia (CANTARELLA, 2007; CASSMAN; MUNNS, 1980).

As formas de nitrogênio (amídica, nítrica ou amoniacal) aplicadas via fertilização estão sujeitas a diferentes transformações no solo, interferindo diretamente nos processos de perdas, mineralização e imobilização desse nutriente. Em virtude das dificuldades encontradas no manejo da fertilização nitrogenada, em condições de cana-de-açúcar colhida sem queima (“cana crua”), os trabalhos realizados indicaram que a cultura utiliza menos que 40 % do N-fertilizante aplicado, sendo esses resultados atribuídos, em parte, ao efeito residual do fertilizante no solo, em razão de sua elevada imobilização, assim como de perdas do N do sistema solo-planta para a atmosfera (TRIVELIN et al., 2002). Muitos estudos realizados com a cultura da cana-de-açúcar em sistema de cana crua não têm evidenciado resposta em produtividade de colmos com a aplicação de fertilizante, independente da fonte e dose de N (AZEREDO et al., 1986; PRADO; PANCELLI, 2008; CABRERA, 2010; FRANCO et al., 2010; ROSSETTO et al., 2010). Dessa forma, a hipótese levantada é que parte do nitrogênio nativo do solo e aquele proveniente do resíduo vegetal depositado na área após a colheita estão disponíveis em formas lábeis no solo e em quantidades suficientes para suprir as necessidades da cultura.

A mineralização é dependente de fatores ambientais como a temperatura, umidade, aeração e, principalmente da composição química destes restos culturais, especialmente da relação C/N, concentrações de lignina, celulose, hemicelulose e polifenóis (HERMAN et al.,

1977; COCHRAN et al., 1980; NG KEE KWONG et al., 1987). O carbono e o nitrogênio orgânico estão presentes em diversas formas no solo, tais como proteínas, peptídios, carboidratos, lignina, ácidos orgânicos, compostos aromáticos, lipídios, alguns hidrocarbonetos, ácidos nucleicos e amino açúcares (KONONOVA, 1966; PAUL, 1970; FLAIG et al., 1975). No entanto, o caráter e a estabilidade da matéria orgânica não podem ser representados como uma simples soma das propriedades destes componentes. Enfim, uma série de outros componentes controla a cinética de transformação do N-orgânico que compõe a matéria orgânica (JANSSEN, 1996).

Levando-se em consideração que a matéria orgânica do solo é o principal reservatório de N para as plantas, é de fundamental importância a quantificação do N orgânico potencialmente mineralizável. Como consequência dos processos de mineralização e imobilização, uma parte (20 a 50%) do N dos fertilizantes aplicada ao solo é imobilizada e incorporada nas estruturas das substâncias húmicas, tornando-se pouco disponível para as plantas (JACQUIN et al., 1992). Experimento conduzido por Kelley e Stevenson (1995), com ^{15}N , demonstrou que aproximadamente 1/3 do N dos fertilizantes aplicados permaneceu no solo na forma orgânica após o primeiro cultivo, e somente uma fração menor que 15% seria aproveitada pelas plantas. Estudos envolvendo os mecanismos relacionados com a imobilização e mineralização de fertilizantes nitrogenados foram relatados por diversos autores (BROADBENT; TAYLOR, 1962; KONONOVA, 1966; BREMMER, 1967; FLAIG et al., 1975; VONG et al., 1990; JACQUIN et al., 1992; SULÇE et al., 1996).

Embora nem sempre extrapoláveis para condições de campo, alguns métodos laboratoriais, caracterizados por incubações de solos em condições aeróbias e anaeróbias, têm sido utilizados para determinar o N potencialmente mineralizável do solo (KEENEY; BREMNER, 1966; STANFORD; SMITH, 1972). Um método bastante utilizado tem sido o fracionamento do nitrogênio orgânico, baseado na hidrólise do solo com ácidos e aquecimento da amostra sob refluxo por 12 horas, sendo identificadas as frações: nitrogênio total hidrolisável; nitrogênio amoniacal hidrolisável, aminoácido e aminoaçúcares (STEVENSON, 1996; MULVANEY; KHAN, 2001). A fração de nitrogênio não hidrolisável, obtida da subtração do nitrogênio total hidrolisável daquele do nitrogênio total do solo, corresponde à fração do nitrogênio resistente à hidrólise ácida, de natureza não protéica (SCHNITZER; HINDLE, 1981).

Em estudo de incubação aeróbia conduzido por Reddy et al. (2003) foi observado que as frações de nitrogênio hidrolisável apresentaram com o nitrogênio mineralizado coeficientes de correlação maiores do que 0,95, indicando que essas frações podem ser fontes potenciais

de nitrogênio mineral. Outros estudos conduzidos com solos do centro-norte e nordeste dos Estados Unidos mostraram que a cultura do milho cultivada nessas regiões não responde a fertilização nitrogenada (BUNDY; MALONY 1988; FOX et al., 1989; ROTH; FOX, 1990; MEISINGER et al., 1992; BROWN, et al., 1993; SCHMITT; RANDALL, 1994). Amostras de solo coletadas nos locais (em solos responsivos e não responsivos a adubação nitrogenada) foram submetidas ao fracionamento do N orgânico para verificar quais as frações específicas de N orgânico do solo estavam associadas a falta de resposta a fertilização com N, e os resultados mostraram que as concentrações de N-total hidrolisável, N-NH₄ hidrolisável e N-aminoácido foram bem mais elevadas nos solos não responsivos que nos responsivos à adubação com N. Estudos de incubação posteriores relataram que os solos não responsivos produziram quantidade mais elevada de N-mineral do que os solos responsivos, e a mineralização foi acompanhada por decréscimo na concentração de N-aminoaçúcar (MULVANEY et al., 2001). Diante do exposto, surgiu-se a necessidade de desenvolver um método para estimar o potencial de resposta da cultura do milho à fertilização nitrogenada e a adequada recomendação de N-fertilizante. O Illinois Soil Nitrogen Test (ISNT) foi desenvolvido para este propósito e permitiu prever a disponibilidade do N proveniente da fração lábil da matéria orgânica do solo (KHAN et al., 2001). Este método consiste na estimativa de N por meio da liberação de gás amônia do solo sob aquecimento submetido à hidrólise alcalina. Vários estudos evidenciaram que o ISNT é eficiente em prever a resposta ou não do milho à adubação nitrogenada, apresentando elevada correlação com algumas formas de N da biomassa microbiana, especialmente com as frações N-amida e N-aminoaçúcar (BARKER et al., 2006; KLAPWYK et al., 2006; LABOSKI et al., 2008; MULVANEY et al., 2006; WILLIAMS et al., 2007; KHAN et al., 2001). Dessa forma, fica claro que estudos relacionados à quantificação de frações de nitrogênio no solo que contribuem para a mineralização do N orgânico podem permitir o estabelecimento de quantidades mais adequadas de fertilizantes a serem aplicados às culturas, já que proporciona melhor entendimento dos processos de imobilização/mineralização.

Com base nos antecedentes apresentados, o trabalho teve como objetivo avaliar por meio de incubação aeróbia, as transformações (taxas de imobilização e mineralização) do N, em função da aplicação de fontes de N (amídico e amoniacal) e, ou da incorporação de resíduo vegetal de elevada relação C/N ao solo.

5.2 Material e métodos

A pesquisa foi realizada nas dependências do Departamento de Recursos Naturais e Ciência Ambiental da Universidade de Illinois, Illinois, EUA. As taxas de mineralização e imobilização do N no solo foram determinadas por meio da incubação aeróbia, em experimento de laboratório, utilizando solo anteriormente cultivado com a cultura da cana-de-açúcar. O solo coletado na região de Piracicaba/SP, foi classificado como LATOSSOLO VERMELHO distrófico (LVd) (EMBRAPA, 2006), referente ao Typic Hapludox segundo classificação americana (SOIL SURVEY STAFF, 2010).

Antes de ser realizada a pré-incubação do solo por 30 dias, procedeu-se à correção da umidade e da acidez do solo. A capacidade máxima de retenção de água do solo (CMR) foi determinada conforme descrito em Bremner e Shaw (1958), sendo estimada em 33%. Posteriormente, foi realizada a correção da umidade do solo para 40% da CMR, adicionando-se 132 mL de água por quilo de solo. A correção da acidez do solo foi realizada para elevar a saturação por bases (V%) à 60%, utilizando-se CaO.

As concentrações de matéria seca, lignina, celulose, fibra detergente neutro (FDN) e fibra detergente ácido (FDA) do resíduo de cana-de-açúcar (folha seca + ponteiro) antes da instalação do experimento, determinados conforme Goering e Van Soest (1975) foram, respectivamente, 952, 517, 401, 326 e 75 g kg⁻¹. As concentrações de C total e o N total (426 e 7 g kg⁻¹, respectivamente), foram determinados em espectrômetro de massas contendo analisador automático de N (modelo ANCA-GSL, 20-20, PDZ Europe, Crewe, GBR) segundo Barrie e Prosser, 1996. As concentrações de macronutrientes no resíduo foram determinadas segundo Malavolta, Vitti e Oliveira (1997) e encontram-se na Tabela 1.

A Tabela 2 relaciona os atributos químicos do solo antes da aplicação dos tratamentos. Os atributos químicos do solo foram determinados segundo os seguintes métodos: pH - CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ (RAIJ et al., 2001); CO – carbono orgânico, método colorimétrico (RAIJ et al., 2001); P - Extração por resina trocadora de íons e determinação por colorimetria (RAIJ et al., 2001); S-SO₄ – NH₄ OAc 0,5N emHOAc 0,25N (VITTI, 1989); K – Extração por resina trocadora de íons e determinação por Fotometria de chama (RAIJ et al., 2001); Ca e Mg – Extração por resina trocadora de íons e determinação por espectrometria de absorção atômica (RAIJ et al., 2001); H+Al – Determinação por potenciometria em solução tampão SMP (RAIJ et al., 2001).

Tabela 1 - Concentrações de macro e micronutrientes no resíduo vegetal de cana-de-açúcar

Resíduo vegetal	N	P	K	Ca	Mg	S	Na	B	Cu	Fe	Mn	Zn	Cl
	g kg ⁻¹						mg kg ⁻¹						
Ponteiro (Pont)	8,8	2,1	26,8	1,9	1,3	2	0,4	7,2	4,7	182,5	161,9	26,0	8400
Folha seca (FS)	6,5	0,46	3,6	3,2	1,3	0,7	0,3	8,2	5,6	558,7	196,3	17,2	2900
[#] Pont + FS	7,6	0,93	11,5	2,8	1,3	1,14	0,5	5,1	4,7	454,2	185,3	23,3	5800

[#]O resíduo de cana-de-açúcar incorporado ao solo foi obtido da mistura: folha seca + ponteiro na proporção 2:1, respectivamente

Tabela 2 - Caracterização química do solo antes da aplicação dos tratamentos

CO	N total	pH	P	SO₄⁻²	K	Ca	Mg	H+Al	SB	CTC	V	m
..... g dm ⁻³		H ₂ O	... mg dm ⁻³ ...		 mmolc dm ⁻³						 %	
14,5	0,82	4,8	24	4,4	3,2	19	2	71	55	126,5	43	3

5.2.1 Incubação aeróbia

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com seis tratamentos constituindo-se um fatorial 3x2 (descritos abaixo), três repetições e oito tempos de avaliação, totalizando 144 unidades experimentais. Antes da instalação do experimento o solo foi pré-incubado por 30 dias a 40% CMR, temperatura de 25°C e 85% de umidade relativa para reativação da atividade microbiana do solo. Na fase de pré-incubação foi incorporado ao solo resíduo vegetal (seco e triturado em moinho tipo Wiley) na dose de 5,3 g kg⁻¹ de solo, referente a 15 Mg ha⁻¹ de fitomassa seca de parte aérea de cana-de-açúcar (folha seca + ponteiro, na proporção 2:1, respectivamente). A dose de resíduo foi calculada de acordo com a densidade do solo (1,44 g cm⁻³), considerando a profundidade de 0-20 cm. Os fertilizantes nitrogenados (enriquecidos com 2% em átomos de ¹⁵N) foram aplicados superficialmente, após 30 dias de pré-incubação, na forma amoniacal - (NH₄)₂SO₄ ou amídica - CO(NH₂)₂ na dose de 100 mg kg⁻¹ de solo (Figura 1a, 1b). Os tratamentos do estudo avaliaram a interação entre o resíduo de cana-de-açúcar e formas de N-mineral com o N nativo do solo, sendo os seguintes:

- 1) sem resíduo e sem N-mineral (solo);
- 2) sem resíduo e com N-amídico (tratamento N-NH₂);
- 3) sem resíduo e com N-amoniacal (tratamento N-NH₄);
- 4) com resíduo e sem N-mineral (tratamento cana);
- 5) com resíduo e com N-ureia (tratamento cana + N-NH₂);
- 6) com resíduo e com N-sulfato de amônio (tratamento cana + N-NH₄);

Após o tempo de pré-incubação com o resíduo de cana-de-açúcar, o solo (20 g na base seca) foi acondicionado em frasco plástico com capacidade para 200 mL, fechado com tampa na extremidade superior, e incubado em câmaras adaptadas e calibradas para manter a temperatura a 25°C e 85% de umidade (Figura 1c e 1d). O experimento teve duração de 20 semanas, sendo adotadas parcelas destrutivas.

Figura 1 - a) Preparo da solução enriquecida com N marcado no isótopo ^{15}N ; b) Aplicação da solução enriquecida com ^{15}N por meio de pipeta automática; c) Parcelas experimentais - frascos plásticos com capacidade para 200mL contendo 20g de solo; d) câmaras de incubação adaptadas e calibradas para manter a temperatura a 25°C e 85% de umidade

Após os tempos de 0, 1, 3, 6, 12, 15, 17 e 20 semanas de incubação, procedeu-se a remoção das formas de N inorgânico do solo por meio de agitação das amostras durante 1 hora com solução de $\text{KCl } 2 \text{ mol L}^{-1}$ (relação solo:solução de 1:6) segundo metodologia de Bremner e Keeney (1966), utilizando filtro de microfibras de vidro em funis de Buchner de polipropileno (Figuras 2a e 2b). Os extratos foram armazenados em frascos de vidro com capacidade de 150 mL e mantidos sob refrigeração para posterior determinação das formas de N-mineral do solo (Figura 2c).

As amostras de solo foram secas ao ar, sendo posteriormente submetidas à filtragem com $\text{K}_2\text{SO}_4 \text{ } 0,5 \text{ M}$ para remoção do excesso de KCl remanescente (Figura 2d). O tempo foi considerado zero no momento da adição das fontes de N enriquecidas com ^{15}N (30 dias após pré-incubação com resíduo de cana-de-açúcar). Os lixiviados foram analisados para determinação das formas minerais de N: N-NH_4^+ e $\text{N-(NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-)$ por meio do método da difusão

(MULVANEY; KHAN, 2001). Para a manutenção da umidade nas amostras incubadas, o conteúdo de água foi monitorado por pesagem e a reposição realizada quando necessária.

As taxas de N-mineral no solo mineralizado ou imobilizado, em $\text{mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, foram obtidas por meio da equação:

$$\text{N-mineral (mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}) = (Nt_x - Nt_{x-1})/t_y;$$

sendo que, Nt_x corresponde a concentração de N-mineral no solo no tempo x (semana), Nt_{x-1} corresponde a concentração de N-mineral no solo no tempo anterior e t_y corresponde ao número de dias referente ao período t_{x-1} a t_x .

Figura 2 - (a) processo de filtragem do solo sob vácuo para extração das formas de N inorgânico; (b) amostra de solo após extração com KCl; (c) extratos de KCl 2M das amostras lixiviadas; (d) amostras de solo secas ao ar, sendo posteriormente submetidas à filtragem com K₂SO₄ 0,5 M para remoção do excesso de KCl remanescente

Foram realizadas determinações de N-orgânico (após a remoção do N mineral) nos tempos 0, 3, 6, 12, 17 e 20 semanas por meio da digestão sulfúrica e posterior quantificação do N pelo método da difusão (BREMNER; MULVANEY, 1982). O nitrogênio orgânico hidrolisável do solo foi determinado nos tempos 0, 1, 6, 12 e 20 semanas, conforme o método descrito em Bremner (1965) com modificações de Stevenson (1996). Basicamente, em balão de fundo redondo com capacidade de 50 mL, foram adicionados 5 g de solo (seco e moído em almofariz), 20 mL de HCl 6 mol L⁻¹ e cinco gotas de octanol, para evitar a formação de espuma. Os frascos permaneceram imersos em banho de óleo, aquecidos à temperatura de 110-120°C sob refluxo por 12 horas com o auxílio de um condensador de Liebig, em seguida, as amostras foram filtradas em papel de filtro Whatman 50 (Figuras 3a e 3b).

Figura 3 - (a) Condensador de Liebig para aquecimento das amostras de solo sob refluxo, com dispositivo para manter a temperatura dos 6 conjuntos a 110°C; b) hidrolisado do solo após resfriamento e filtragem; (c) e (d): neutralização das amostras para obtenção de pH do extrato entre 6,5 e 6,8

O extrato foi neutralizado com a adição de NaOH 10 mol L⁻¹ para a obtenção de pH entre 6,5 e 6,8 e completado com água deionizada em béquer de 100 mL (Figuras 3c e 3d). Utilizando o método da difusão descrito em Mulvaney e Khan (2001), os hidrolisados neutralizados do solo foram analisados para N hidrolisável total (Figura 4b).

O N-ISNT (Illinois Soil Nitrogen Test), para estimativa do N-amino açúcares e N-amidas em bactérias (KWON et al., 2009), foi determinado nos tempos 0, 1, 3, 6, 12 e 20 semanas, segundo Khan et al. (2001). Em placa de Petri de acrílico de 60 mm de diâmetro, que permaneceu suspensa por meio das adaptações feitas na tampa das câmaras de difusão do tipo Mason Jar (Figura 4a) foram adicionados 5 mL de solução indicadora H₃BO₃ a 4%. Em seguida, 1 g de solo foi tratado com 10 mL de solução de NaOH (2 mol L⁻¹) em câmara de difusão com as adaptações descritas em Stevens et al. (2000) e imediatamente fechadas com as tampas modificadas (Figura 4b). As câmaras de difusão foram imediatamente colocadas sobre placas aquecedoras pré-aquecidas a 48-50 °C e dispostas dentro de caixas plásticas para reduzir o efeito da temperatura ambiente do laboratório, conforme sugerido por Klapwyk e Ketterings (2005) (Figuras 4c e 4d). A temperatura foi verificada previamente por meio de termômetro inserido dentro de uma câmara contendo cerca de 100 mL de água deionizada. As amostras foram rotacionadas na placa após 1,5 e 3 horas e retiradas após 5 h de aquecimento.

As placas de Petri foram retiradas e receberam 5 mL de água deionizada, realizando-se a titulação com solução de H₂SO₄ (0,01 mol L⁻¹) até estabelecimento do pH final em titulador automático acoplado com eletrodo de superfície plana para determinação do N-NH₄ (Figuras 4e e 4f). O pH final no titulador automático foi estabelecido realizando-se a leitura do pH da solução preparada pela mistura de 5 mL da solução indicadora de H₃BO₃ (4%) e 5 mL de água deionizada.

Figura 4 - (a) tampa modificada para manter a placa de petri suspensa; (b) câmara de difusão do tipo “Mason Jar”; (c) placa aquecedora dentro da caixa de plástico para homogeneizar a temperatura; (d) controlador de temperatura acoplado ao termostato da câmara de difusão; (e) Placa de Petri com 5 mL de solução indicadora 4% H_3BO_3 após tempo de difusão decorrido, a diferença de cor indica diferença na concentração de N; (f) titulador automático utilizado na determinação do N das amostras

A determinação da abundância de ^{15}N no N-mineral ($\text{NH}_4 + \text{NO}_3 + \text{NO}_2$) foi realizada utilizando a solução extraída com $\text{KCl } 2 \text{ mol L}^{-1}$ para determinação de N-mineral (método da

difusão). Os extratos foram acidificados (0,2 ml H_2SO_4 25 mM) e evaporado por aquecimento a 90°C (Figura 5a e 5b), e em seguida adicionou-se 10 mL de metanol para a evaporação completa do ácido bórico, e finalmente 10 mL de água deionizada para a evaporação completa do metanol. O resíduo foi dissolvido em água deionizada e uma alíquota utilizada para análise de ^{15}N em espectrômetro de massa (MULVANEY et al., 1990; MULVANEY; LIU, 1991) (Figura 5c, 5d).

Figura 5 - (a) Detalhe do processo de titulação, ficando em contato com a amostra, o agitador, pHmetro e o dispositivo para liberação de H_2SO_4 ; (b) amostras tituladas e acidificadas, aquecida para evaporação a aproximadamente 50°C ; (c) transferência de uma alíquota de 200 μL contendo entre 100 e 200 μg de N para microplaca de acrílico; (d) leitura da análise de abundância de ^{15}N em % de átomos realizada em espectrômetro de massas

Com os resultados de abundância isotópica das amostras (% em átomos de ^{15}N), foram calculadas as porcentagens e concentrações de nitrogênio no solo proveniente da fonte marcada que sofreram transformações no solo, ou seja, o quanto do N aplicado na forma de N-NH_2 ou N-NH_4 , permaneceu na forma aplicada, sofreu nitrificação, ou foi imobilizado pela microbiota do

solo. O tratamento sem adição de N, também foi analisado por espectrometria de massas, para determinar a abundância isotópica natural média (c) de ^{15}N .

$$\text{NMSPF (\%)} = [(a - c)/(b - c)] \cdot 100$$

$$\text{NMSPF (mg kg}^{-1}\text{)} = [\text{NSPF (\%)/100}] \cdot \text{N-total (mg kg}^{-1}\text{)}$$

Onde: NMSPF – nitrogênio mineral no solo proveniente do fertilizante; a – abundância em átomos de ^{15}N no solo; b – abundância em átomos de ^{15}N no fertilizante; c – abundância natural em átomos de ^{15}N (0,366%); N-total – nitrogênio total no solo em mg kg^{-1} .

A estimativa do N-mineral nativo do solo, mineralizado ou imobilizado, foi obtida por meio da equação:

$$\text{N-nativo (mg kg}^{-1}\text{)} = (\text{N-mineral}_{t_x} - \text{NMSPF}_{t_x}) - \text{Ncontrole}_{t_x}$$

sendo que, N-mineral_{t_x} corresponde a concentração de N-mineral do solo no tempo x (semana), NMSPF_{t_x} corresponde ao nitrogênio mineral no solo proveniente do fertilizante no tempo x (semana) e Ncontrole_{t_x} corresponde ao N-mineral no solo (sem aplicação de N-fertilizante) no tempo x.

5.2.2 Análise estatística dos resultados

Todas as variáveis foram analisadas estatisticamente por meio do emprego do SAS Proc GLM (SAS Institute Inc., Cary USA). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e os tratamentos comparados pelo teste Tukey de comparação de médias ($p = 0,01$). Para cada tempo de incubação, as barras indicadas acima dos pontos médios que aparecem nas figuras referem-se à diferença mínima significativa entre tratamentos (DMS).

5.3 Resultados e discussão

A Figura 6 apresenta as concentrações de N mineral total ($\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) no solo em função da incorporação de resíduo de cana-de-açúcar e aplicação de N-amídico (N-NH_2) ou N-amoniaco (N-NH_4). No tempo zero, correspondente ao momento da adição das fontes de N, a concentração de N-mineral extraído do solo foi de 83 mg kg^{-1} ; com a adição do resíduo de cana-de-açúcar (tratamento cana) a concentração foi reduzida para $47,5 \text{ mg kg}^{-1}$. A menor concentração de N-mineral no tratamento com cana pode ser atribuída à maior imobilização do N nativo do solo em relação à mineralização, durante o período de pré-incubação desse tratamento. Azam et al. (1993) encontraram resultados semelhantes em experimento de avaliação da mineralização de resíduo de milho. Segundo os autores, o N mineral do solo, ao início, foi imobilizado durante a decomposição da matéria orgânica incorporada, sendo subsequentemente mineralizado, em menor grau, quando comparado ao solo sem adição de resíduo.

A concentração de N-mineral para o controle (solo) durante o período experimental foi em média 65 mg kg^{-1} . Mariano (2010) estimou por meio de incubação aeróbia de longa duração, a mineralização potencial do solo deste estudo. Os valores encontrados referentes ao N potencialmente mineralizável e N mineralizado acumulado no período de 20 semanas foram de 60 e $53,2 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente. Estes valores foram considerados baixos e, segundo o autor, apesar do solo possuir elevada concentração de carbono total ao longo do perfil, apresentou baixa mineralização líquida de N, possivelmente pela sua alta relação C/N. Em adição aos fatos apresentados, o processo de imobilização-remobilização do N pela microbiota, passível de ocorrer em ensaios envolvendo incubação aeróbia e anaeróbia de solos (WANG et al., 2001), pode ter atuado com grande intensidade no solo.

Figura 6 – Concentração de N-mineral no solo em função do tempo relacionadas à incorporação de resíduo de cana-de-açúcar e/ou aplicação de fontes de N (N-NH₂ ou N-NH₄) ao solo. Barras indicam o DMS

As concentrações de N-mineral no solo durante todo o período experimental, como esperado, foram menores no controle (solo) e para o tratamento cana. No entanto, logo após a aplicação das fontes de N (tempo zero) a concentração de N extraída para o tratamento cana + N-NH₄ foi de 164,2 mg kg⁻¹; subtraindo-se os 100 mg kg⁻¹ aplicados de N como sulfato de amônio, chegou-se a um excedente de 64 mg kg⁻¹ de N-mineral. Comparando-se este valor com o encontrado no controle (solo), que continha 83 mg kg⁻¹ de N-mineral, pode concluir que o tratamento cana + N-NH₄ apresentou déficit de N-mineral no solo relativo ao tratamento controle de 18,6 mg kg⁻¹, como discutido anteriormente para o tratamento cana. Por outro lado, esse resultado sugere que a adição de N-NH₄ levou a uma maior taxa de mineralização do N-nativo do solo comparado ao tratamento cana. O aumento na disponibilidade de N do solo quando adubado com nitrogênio é conhecido como efeito “priming”, sendo definido como a estimulação da decomposição da matéria orgânica do solo pela adição de N inorgânico (fertilizante mineral), principalmente em solos que contenham grandes quantidades de matéria orgânica de ampla relação C/N (JENKINSON et al., 1985).

As concentrações de N-mineral no solo durante todo o período experimental foram menores para os tratamentos com incorporação de resíduo de cana associado à adição de N-

mineral (cana + N-NH₄ e cana + N-NH₂) se comparados aos tratamentos em que foram aplicadas apenas a fonte de N (N-NH₂ e N-NH₄) (Figura 6). No momento da aplicação das fontes de N (tempo zero) a concentração de N-mineral encontrado no solo para o tratamento em que foi aplicado N-amídico foi de aproximadamente 80 mg kg⁻¹; com a incorporação do resíduo de cana-de-açúcar a concentração reduziu para 40 mg kg⁻¹, evidenciando novamente que houve imobilização do N nativo do solo durante o período de pré incubação nesse tratamento. Para os tratamentos com N-amoniaco foi observada a mesma tendência. Silva et al. (1999) avaliaram, em condições de laboratório, as transformações do N do solo em função da aplicação de vinhaça (¹⁵N) na superfície do solo, de forma isolada ou combinada com ureia e/ou com resíduo de cana-de-açúcar. Os autores concluíram que a aplicação de ureia aumentou a disponibilidade de N-mineral proveniente da vinhaça; no entanto, em presença de palha as concentrações de N-mineral derivados da vinhaça foram muito baixos.

No tempo zero, diferentemente do tratamento cana + N-NH₄, o tratamento N-NH₄ (sem adição de resíduo), mostrou um excedente no N-mineral de 40 mg kg⁻¹ em relação ao controle (Figura 6). A adição de N-amoniaco pode ter levado a mineralização do N orgânico nativo do solo no momento de sua adição ao solo. Bingeman et al. (1953) também sugeriram que o fenômeno de aumento da mineralização do N refere-se a um efeito “priming”. Muitos trabalhos subsequentes mostraram que a adição de N-fertilizante promove aumento na mineralização do N do solo (WOODS et al., 1987; AZAM et al., 1991; RAO et al., 1991). As concentrações de N-mineral para o tratamento N-NH₂ ocorreram em função da ureia se apresentar na forma amídica, não se encontrando, dessa forma, em uma forma prontamente disponível para a incorporação pelos microrganismos em aminoácidos e proteínas. Segundo Recous, Mary e Faurie (1990), o nitrogênio na forma de amônio, é preferido pelos microrganismos do solo, visto que não necessita ser reduzido por sistemas enzimáticos para incorporação nos aminoácidos das bactérias e fungos (MERRICK; EDWARDS, 1995; MARZLUF, 1997).

Após uma semana de incubação o solo dos tratamentos cana + N-NH₂ e cana + N-NH₄ apresentaram a mesma concentração de N-mineral, ou seja, todo o N amídico havia se transformado em N-mineral (Figura 6). Após 20 semanas de incubação, as concentrações de N-mineral dos tratamentos cana + N-NH₂ e cana + N-NH₄ foram, respectivamente, de 64 e 101,3 mg kg⁻¹, valores esses inferiores aos verificados nos tratamentos N-NH₂ e N-NH₄. Esses dados confirmam novamente que a adição de N-mineral em resíduo de elevada relação C/N levam a

imobilização do N disponível, tanto do solo quanto do fertilizante. Jenkinson et al. (1985) introduziu o termo ANI (“added nitrogen interaction”), para descrever o aumento (ANI positivo) ou decréscimo (ANI negativo) na mineralização do N nativo do solo seguida da aplicação de fertilizante. Hart et al. (1986) observou ANI em solo com baixo conteúdo de matéria orgânica, mas não em solo com elevado conteúdo de matéria orgânica. A incubação de longa duração permite concluir que o processo de passagem de N da forma mineral para a forma orgânica e vice-versa ocorre simultaneamente no solo, existindo uma contínua transferência de N entre os compartimentos orgânicos e minerais (JANSSON; PEARSON, 1982). Segundo Azam et al. (1993) o ANI conduz não somente a um aumento na disponibilidade de N nativo do solo, mas também conserva o N aplicado pela imobilização-remineralização (processo conhecido como “turnover”).

A menor concentração de N-NH_4^+ no solo, no tempo zero, foi obtida no controle ($22,6 \text{ mg kg}^{-1}$) (Figura 7), enquanto que, as maiores concentrações de N-NH_4^+ foram encontradas nos tratamentos N- NH_4 e cana + NH_4 ($158,5$ e $158,4 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente). Os demais tratamentos apresentaram em média 32 mg kg^{-1} de N-NH_4^+ . Após uma semana de incubação a concentração de N-NH_4^+ no solo ainda era maior no tratamento cana + N- NH_4 (38 mg kg^{-1}), enquanto nos demais tratamentos foram encontrados 20 mg kg^{-1} de N-mineral, em média. A maior concentração de N-NH_4^+ no tratamento cana + N- NH_4 (excedente de 18 mg kg^{-1}), após 1 semana de incubação, pode ter ocorrido devido à maior amonificação (mineralização bruta) nesse tratamento em detrimento aos demais. Como discutido anteriormente, o N-amoniaco encontra-se prontamente disponível no solo para a incorporação pelos microrganismos, resultando em maior atividade microbiana, e desde que em havendo fonte de carbono, pode ter levado a maior mineralização do N-orgânico (AZAM; IFZAL 2006; HERRMANN et al., 2005; STE-MARIE; PARÉ, 1999). A concentração de N-NH_4^+ no tratamento N- NH_2 confirma esta hipótese, já que nesse mesmo tempo, para esse tratamento, praticamente todo o N-mineral do solo encontrava-se na forma nítrica. Na terceira semana de incubação as concentrações de N-NH_4^+ no solo, para todos os tratamentos, já se encontravam muito baixas e próximas a 10 mg kg^{-1} .

Figura 7 – Concentrações de N-NH_4^+ no solo em função do tempo relacionadas a incorporação de resíduo de cana-de-açúcar e/ou aplicação de fontes de N (N-NH_2 ou N-NH_4). Barras indicam o DMS

As concentrações de N-NH_4^+ nos tratamentos N-NH_4 e cana + NH_4 diferiram no tempo zero, sendo que o tratamento com a adição de resíduo apresentou 8 mg kg^{-1} a menos que o N-NH_4 (Figura 7). Após 20 semanas de incubação as concentrações de N-NH_4 no solo para todos os tratamentos encontravam-se próximos a 5 mg kg^{-1} .

As concentrações de $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ no solo foram muito baixas (em média 10 mg kg^{-1}) no tempo zero, para os tratamentos com resíduo de cana, independente da fonte de N associada (Figura 8). A concentração encontrada para o controle foi de 60,2 mg kg^{-1} , diferindo dos tratamentos com adição de resíduo vegetal com ou sem N-mineral, os quais não diferiram entre si. Após uma semana de incubação e da adição de N-mineral (N-amídico e N-amoniaco), as concentrações de N no solo encontravam-se majoritariamente na forma nítrica. A concentração de N-NO_3^- do controle (solo) foi superior ao tratamento em que foi adicionado apenas resíduo de cana durante todo o período experimental. Após 20 semanas de incubação as concentrações de N-NO_3^- no solo nos tratamentos controle (solo) e cana foram, respectivamente, de 56 e 18 mg kg^{-1} .

Figura 8 – Concentrações de $N-(NO_3^- + NO_2^-)$ no solo em função do tempo e relacionados à incorporação de resíduo de cana-de-açúcar e/ou aplicação de fontes de N ($N-NH_2$ ou $N-NH_4$). Barras indicam o DMS

A taxa de N-mineral no solo foi consequência dos processos de mineralização e imobilização que ocorreram simultaneamente por todo o período experimental (Tabela 3). No tempo de uma semana após o início de incubação com as fontes de N, os tratamentos $N-NH_2$ e cana + $N-NH_2$ foram os que apresentaram as maiores taxas líquidas de N-mineral no solo não diferindo entre si, e igualando-se posteriormente aos demais tratamentos. Os resultados indicaram que após uma semana da adição de ureia o N dessa fonte se encontrava majoritariamente na forma de $N-NO_3$ (Figura 8). A velocidade de reação de transformação do $N-NH_2$ a N-mineral depende de uma série de fatores extrínsecos e intrínsecos; no presente experimento as condições controladas de temperatura e umidade foram ideais para a plena atividade dos microrganismos do solo o que influenciou diretamente nas velocidades das reações.

Tabela 3 - Taxas de mineralização ou imobilização do N-mineral (N-nativo + N-fertilizante) no solo em função da incorporação de resíduo de cana-de-açúcar e/ou fontes de N (N-amídico e N-amoniaco)

TRAT	Intervalo (semanas)						
	0 a 1	1 a 3	3 a 6	6 a 12	12 a 15	15 a 17	17 a 20
	 N-mineral (mg kg ⁻¹ dia ⁻¹)						
Solo	1,19 b	-0,10 b	-1,55 b	-0,24 c	0,30 a	-1,77 ab	1,21 b
cana	-2,51 c	-0,67 b	-0,84 a	0,45 b	-0,22 a	-0,64 a	0,40 c
N-NH ₂	20,19 a	0,98 a	-3,73 de	2,03 a	-2,95 b	-1,56 ab	0,87 bc
cana + N-NH ₂	18,62 a	0,85 a	-3,19 cd	2,02 a	-2,70 b	-2,74 b	1,47 b
N-NH ₄	-0,92 c	0,97 a	-3,88 e	2,12 a	-3,39 b	-5,05 c	3,47 a
cana+ N-NH ₄	1,38 b	-0,80 b	-2,65 c	2,00 a	-2,54 b	-1,98 b	0,90 bc
Valor F	***	***	***	***	***	***	***
DMS	1,6	0,7	0,55	0,22	1,6	1,2	0,75

Valores negativos correspondem ao N-mineral no solo imobilizado; ***: significativo pelo teste Tukey a 1% de probabilidade; DMS: diferença mínima significativa

Como esperado, para o tratamento cana + N-NH₄ (1,4 mg kg⁻¹ dia⁻¹) houve menor produção líquida de N-mineral no solo do que no tratamento cana + N-NH₂ (18,6 mg kg⁻¹ dia⁻¹) no período de uma semana do início do experimento (Tabela 3). No tempo zero todo o N-mineral do tratamento cana + N-NH₄ (164 mg kg⁻¹) encontrava-se disponível no solo para utilização pelos microrganismos, enquanto que o N do tratamento cana + N-NH₂ encontrava-se na forma orgânica (amídica), não estando prontamente disponível. A maior atividade microbiana no solo por adição de N-NH₄ em detrimento a N-NH₂ como discutido anteriormente, implica em maior mineralização, porém podendo haver maior imobilização da fonte de N-fertilizante disponível para os microrganismos e, dessa forma, a maior mineralização de N-orgânico pode não se traduzir, necessariamente, em balanço positivo de N no solo.

A menor concentração de N-ISNT, após uma semana da adição das fontes de N, foi obtida para o controle (solo) que diferiu do tratamento cana + N-NH₄ (Figura 9). Esse resultado sugere que houve maior imobilização do N pelos microrganismos do solo para este tratamento comparado aos demais.

Todos os tratamentos foram acompanhados por aumento no conteúdo de N-ISNT da primeira para a terceira semana de incubação, sendo os tratamentos N-NH₄ e N-NH₂ os que apresentaram as menores concentrações de N-ISNT, diferindo dos demais tratamentos.

Figura 9 – N-ISNT do solo em função do tempo com a incorporação de resíduo de cana-de-açúcar e/ou aplicação de fontes de N (N-NH₂ ou N-NH₄) ao solo. Barras indicam o DMS

O tratamento cana + N-NH₄ apresentou pequeno incremento na fração N-ISNT da 3^a até a 12^a semana de incubação, enquanto que para os demais tratamentos houve queda até a 12^a semana. Para o tratamento N-NH₄ houve aumento no N-ISNT da 3^a para a 12^a semana (184 mg kg⁻¹) apresentando valor mais elevado em comparação ao tratamento cana + N-NH₄ (154 mg kg⁻¹). O índice aumentou para todos os tratamentos até a 20^a semana, enquanto os tratamentos N-NH₄ e cana + N-NH₄ permaneceram praticamente inalterados. Os dados de N-ISNT indicam que os processos de imobilização e mineralização do N disponível no solo ocorrem a taxas significativas e em velocidades relativamente altas. Além disso, o N-NH₄⁺ disponível no solo parece ser realmente a forma de N “preferida” pelos microorganismos do solo, já que o N-ISNT representa a fração de N-amida e N-aminoaçúcar de bactérias.

O N total hidrolisado, após uma semana de incubação, foi maior para o tratamento cana + N-NH₄ diferindo dos demais tratamentos (Figura 10). Na 6^a semana de incubação todos os tratamentos apresentaram aumento no N total hidrolisado, sendo o tratamento N-NH₄, o que apresentou o menor valor. Na 12^a semana ocorreu redução no N total hidrolisado para todos os tratamentos. Os valores absolutos de N total hidrolisado do solo, assim como para as concentrações de N-ISNT indicaram que a transferência de N entre os compartimentos orgânico

e mineral ocorrem a taxas significativas e relativamente em tempos muito curtos, porém não indicaram claramente qual tratamento apresentou maior taxa mineralização do N-nativo do solo ou imobilização do N-fertilizante.

As concentrações de N total hidrolisado variaram em média de 370 a 1200 mg kg⁻¹ (Figura 10). Otto (2012) desenvolveu experimento para verificar a influência da mineralização do N do solo na resposta da cana-de-açúcar à adubação nitrogenada em solos de dez experimentos de campo, incluindo o solo do presente estudo. Os resultados mostraram que o solo deste estudo apresentou elevado conteúdo de N total hidrolisável (931 mg kg⁻¹) e elevadas taxas de amonificação (3,6 mg kg⁻¹ dia⁻¹), tendo sido classificado como não responsivo à adubação nitrogenada pelos resultados de produtividade encontrados. O autor concluiu que a diminuição significativa na fração do N-NH₄⁺ hidrolisável foi acompanhada por aumento significativo na fração N aminoaçúcar, indicando alto potencial de mineralização de N nesse solo.

Figura 10 – N total hidrolisado no solo em função do tempo, relacionado a incorporação de resíduo de cana-de-açúcar e/ou aplicação de fontes de N (N-NH₂ ou N-NH₄) ao solo. Barras indicam o DMS

O N-mineral no solo proveniente do fertilizante (NMSPF) nos tratamentos N-NH₂ e cana + N-NH₂, logo após a aplicação da ureia, foram de aproximadamente 5 mg kg⁻¹. Considerando

que a dose aplicada de N-ureia foi de 100 mg kg^{-1} , o valor de NMSPF obtido no início representou 5% do N-fertilizante aplicado (Figura 11). Esse resultado indicou que somente uma pequena parte do N-ureia aplicado foi de pronto hidrolisado no solo ou representou a porção da ureia que poderia estar na forma de N-NH_4 e não como N-NH_2 . Após uma semana de incubação os valores de NMSPF para os tratamentos com aplicação de N-NH_2 corresponderam a 95% do N-fertilizante. O NMSPF no tratamento N-NH_2 se manteve praticamente inalterado durante todo o período experimental, não sendo, portanto evidenciado taxas significativas de imobilização/mineralização do N-fertilizante nesse tratamento. No tratamento cana + NH_2 , na 15ª semana, o NMSPF foi de 70%, evidenciando imobilização do N dessa fonte na fração orgânica do solo. Na 17ª semana o NMSPF para este mesmo tratamento foi da ordem de 30 mg kg^{-1} , ou seja, 70% do nitrogênio total do solo proveniente do fertilizante (NSPF) encontrava-se nas frações orgânicas; após três semanas (20ª semana) o N-fertilizante extraído foi de $87,5 \text{ mg kg}^{-1}$.

Para os tratamentos N-NH_4 e cana + N-NH_4 , logo após a aplicação de sulfato de amônio, os valores recuperados de N-NH_4^+ foram de 90 e 83%, respectivamente, sendo que o tratamento com resíduo de cana apresentou maior imobilização de N-fertilizante durante todo o período experimental (Figura 11). Na 15ª semana houve queda no NMSPF, sendo encontrados valores de 62 e 52 mg kg^{-1} , respectivamente, para os tratamentos N-NH_4 e cana + N-NH_4 , que se igualaram na 17ª semana. De forma geral, a maior taxa de imobilização do N-mineral na fração orgânica do solo ocorreu para os tratamento com aplicação da fonte amoniacal. Como discutido anteriormente esta fonte encontra-se prontamente disponível no solo, enquanto que o N-amídico precisa ser transformado em N-amônio, e dessa forma, na presença de fonte de C com elevada relação C/N os microrganismos fazem uso predominante do N-mineral, tanto do N-nativo do solo quanto do N-fertilizante. Mariano (2010) quantificou em condições de campo, a disponibilidade de N-mineral no solo do presente estudo. Segundo o autor, a baixa concentração de N-NH_4^+ no solo, no tratamento ureia, pode estar relacionado à rápida nitrificação do N da fonte amídica, decorrente da elevação do pH nas proximidades do grânulo durante a hidrólise (BLACK; SHERLOCK; SMITH, 1987), promovendo condições temporárias, porém suficientemente favoráveis ao processo de nitrificação (SANDANAM; KRISHNAPILLAI; SABARATNAM, 1978; WICKRAMASINGHE; RODGERS; JENKINSON, 1985).

Figura 11 – N-mineral no solo proveniente do fertilizante (NMSPF) em função do tempo relacionado à incorporação de resíduo de cana-de-açúcar e/ou aplicação de fontes de N (N-NH₂ ou N-NH₄). Barras indicam o DMS

As concentrações de N-NH₄⁺ no solo proveniente das fontes marcadas nos tratamentos N-NH₄ e cana + N-NH₄, no tempo zero, foram de 90 e 82 mg kg⁻¹ respectivamente (Figura 12a). Após uma semana de incubação o N-NH₄⁺ desses mesmos tratamentos foram cerca de 10 mg kg⁻¹, enquanto para os demais tratamentos o valor médio foi de 5 mg kg⁻¹. Na terceira semana de incubação os valores de N-NH₄⁺ no solo para todos os tratamentos foi de 2 mg kg⁻¹, reduzindo-se a valores próximo a zero a partir da sexta semana.

Para as concentrações de N-NO₃⁻, no tempo inicial, a concentração encontrada foi próximo de zero (Figura 12b). Os valores correspondentes às concentrações de N-NO₃⁻ no solo proveniente do fertilizante, seguiram a mesma tendência das concentrações de NMSPF durante todo o período experimental, uma vez que uma semana após a aplicação, todo N-fertilizante encontrava-se majoritariamente na forma de nitrato.

Figura 12 – N-NH₄⁺ (a) e N-NO₃⁻ (b) no solo proveniente do fertilizante em função do tempo, relacionados à incorporação de resíduo de cana-de-açúcar e/ou aplicação de fontes de N (N-NH₂ ou N-NH₄). Barras indicam o DMS

Após uma semana da aplicação das fontes nitrogenadas os tratamentos com resíduo de cana apresentaram maiores concentrações de N proveniente do fertilizante (NSPF) imobilizado no N total hidrolisado do solo (Figura 13). Ocorreu redução nas concentrações de NSPF no N total hidrolisado para os tratamentos N-NH₂ e N-NH₄ na primeira semana de incubação, o que sugere mineralização para estes tratamentos. Após a 1ª semana de incubação e durante todo o período experimental, as concentrações de N-fertilizante no N total hidrolisado do solo foram maiores no tratamento cana + N-NH₂ (Figura 13). Nos tempos avaliados, a máxima imobilização de N-fertilizante no N total hidrolisado do solo ocorreu na 6ª semana de incubação, com posterior mineralização na 12ª semana e pequena taxa de remobilização na 20ª semana. Segundo Jenkinson et al. (1985) a interação do N adicionado ao solo (ANI) por meio de fertilizante não leva somente a um aumento na disponibilidade do N nativo do solo, mas também conserva o N aplicado por meio da passagem do N da fração orgânica para a fração mineral e vice-versa. A imobilização-mineralização ocorre no solo, existindo contínua transferência entre os compartimentos orgânico e mineral, fenômeno esse conhecido como MIT (“mineralization-immobilization turnover”). O tratamento N-NH₄ apresentou pequenos incrementos de imobilização até a 20ª semana, com ausência de mineralização após a 1ª semana para os períodos avaliados. Os valores absolutos de N total hidrolisado do solo foram de 300 a 1300 mg kg⁻¹ (Figura 10); dessa forma, as concentrações de N-fertilizante imobilizados no N total hidrolisado do solo representaram menos de 1%.

Figura 13 – Nitrogênio no solo proveniente do fertilizante no N total hidrolisado do solo em função do tempo, relacionados à incorporação de resíduo de cana-de-açúcar e/ou aplicação de fontes de N (N-NH₂ ou N-NH₄). Barras indicam o DMS

Os tratamentos com adição de resíduo de cana apresentaram maiores concentrações de N imobilizado e menores concentrações de N mineralizado durante todo o período experimental (Tabela 4) corroborando os resultados apresentados na Figura 13. De forma geral, as quantidades de N mineralizado foram maiores para os tratamentos com adição de N-amidado comparados ao N-amídico. De acordo com os resultados apresentados na Figura 11 os tratamentos com aplicação de N-NH₄ apresentaram menor recuperação de N-mineral e, conseqüentemente, maior imobilização; por outro lado, apresentaram maior taxa de mineralização do que os tratamentos com aplicação de N-NH₂. Alguns estudos sugerem que o “ANI” depende da forma de N aplicada, exemplos de ANIs foram observados com a aplicação de N-NH₄, mas não de N-NO₃ (JANSSON, 1958; HART et al., 1986). Como discutido anteriormente o N proveniente da ureia está em forma pouco disponível à microbiota do solo no momento da aplicação, e desta forma os microrganismos fazem uso do N-NH₄ disponível no solo (tanto do fertilizante, quanto do N nativo do solo) para metabolizarem o carbono do resíduo e obterem energia.

Tabela 4 - Estimativa do N-mineral nativo do solo mineralizado ou imobilizado em função da incorporação de resíduo e formas de N (N-amídico ou N-amoniacal)

TRAT	TEMPO (semanas)							
	0	1	3	6	12	15	17	20
	 N-mineral nativo do solo (mg kg ⁻¹)							
N-NH ₂	-10,4 c	40,6 a	56,2 a	18,6 a	111,5 a	29,6 b	26,9 a	-2,4 c
cana + N-NH ₂	-53,8 d	-14,1 b	-13,1 c	-37,0 c	59,3 c	-0,6 d	31,4 a	-24,4 d
N-NH ₄	51,4 a	38,0 a	66,9 a	23,6 a	118,8 a	48,8 a	19,7 a	27,4 a
cana + N-NH ₄	5,3 b	-9,1 b	7,9 b	-5,4 b	78,7 b	22,4 c	18,5 a	5,0 b
Valor F	***	***	***	***	***	***	***	***
DMS	8,9	6,0	12,7	6,2	9,1	5,2	15,3	5,0

Valores negativos correspondem ao N-nativo do solo imobilizado; TRAT: tratamentos; ***: significativo pelo teste Tukey a 1% de probabilidade; DMS: diferença mínima significativa

5.4 Conclusões

A incorporação de resíduo de cana-de-açúcar ao solo promoveu aumento das taxas de imobilização do nitrogênio mineral disponível.

O nitrogênio da fonte sulfato de amônio apresentou maiores taxas de imobilização na fração orgânica total do solo, porém, com maiores taxas de mineralização do nitrogênio nativo do solo.

O nitrogênio aplicado na forma amídica, proveniente da ureia, promoveu maiores taxas de imobilização na fração de nitrogênio total hidrolisável do solo, porém, com menores taxas de mineralização do nitrogênio nativo do solo.

Referências

AZAM, F.; IFZAL, M. Microbial populations immobilizing NH₄⁺-N and NO₃⁻-N differ in their sensitivity to sodium chloride salinity in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 38, p. 2491-2494, 2006.

AZAM, F.; LODHI, A.; ASHRAF, M. Interaction of “N-labelled ammonium nitrogen with native soil nitrogen during incubation and growth of maize (*Zea mays*L.). **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 23, p. 473-477, 1991.

AZAM, F.; SIMMONS, F.W.; MULVANEY, R.L. Mineralization of N from plant residues and its interaction with native soil N. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 1787-1792, 1993.

AZEREDO, B.J.; BOLSANELLO, J.; WEBER, H.; VIEIRA, J.R. Nitrogênio em cana-planta: doses e fracionamento. **Revista Sociedade dos Técnicos Açúcareiros e Alcooleiros do Brasil**, Piracicaba, v. 4, p. 26-33, 1986.

BARKER, D.W.; SAWYER, J.E.; AL-KAISI, M.M.; LUNDVALL, J.P. Assessment of the amino sugar-nitrogen test on Iowa soils: II. Field correlation and calibration. **Agronomy Journal**, Madison, v. 98, p. 1352-1358, 2006.

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.

BINGEMAN, C.W.; VARNER, J.E.; MARTIN, W.P. The effect of the addition of organic materials on the decomposition of an organic soil. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 17, p. 34-38, 1953.

BLACK, A.S.; SHERLOCK, R.R.; SMITH, N.P. Effect of timing of simulated rainfall on ammonia volatilization from urea, applied to soil of varying moisture-content. **Journal of Soil Science**, Oxford, v. 38, p. 679-687, 1987.

BREMNER, J.M. Organic forms of nitrogen. In: BLACK, C.A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: ASA, 1965. p. 1238-1255. (Agronomy Monography, 9).

_____. Nitrogenous compounds. In: McLAREN, A.D.; PETERSON, G.H. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Dekker, 1967. p. 19-66.

BREMNER, J.M.; KEENEY, D.R. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: 3. Exchangeable ammonium, nitrate, and nitrite by extraction-distillation methods. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 30, p. 577-582, 1966.

BREMNER, J.M.; MULVANEY, C.S. Nitrogen-total. In: PAGE, A.L. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2nd ed. Madison: American Society of Agronomy, 1982. pt. 2, p. 595-624. (Agronomy, 9).

BREMNER, J.M.; SHAW, K. Denitrification in soil: II. Methods of investigation. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 51, p. 22-39, 1958.

BROADBENT, F.E.; TAYLOR, K.B. Laboratory and greenhouse investigations of nitrogen immobilization. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 26, p. 459-462, 1962.

BROWN, H.M.; HOEFT, R.G.; NAFZIGER, E.D. Evaluation of three N recommendation systems for corn yield and residual soil nitrate. In: ILLINOIS FERTILIZER CONFERENCE, 1993, Urbana-Champaign. **Proceedings...** Urbana-Champaign: Univ. of Illinois, Cooperative Ext. Serv., 1993. p. 43-49.

BUNDY, L.G.; MALONE, E.S. Effect of residual profile nitrate on corn response to applied nitrogen. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 52, p. 1377– 1383, 1988.

CABRERA, J.A.; ZUAZNÁBAR, R. Respuesta de la caña de azúcar a la fertilización nitrogenada en un experimento de larga duración con 24 cosechas acumuladas. **Cultivos Tropicales**, La Habana, v. 31, p. 93-100, 2010.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVARES, 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.

CASSMAN, K.G.; MUNNS, D.N. Nitrogen mineralization affected by soil moisture, temperature and depth. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 44, p. 1233-1237, 1980.

COCHRAN, V.L.; ELLIOT, L.F.; PAPENDICK, R.I. Carbon and nitrogen movement from surface applied wheat (*Triticum aestivum*) straw. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 44, p. 978-982, 1980.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Produção de informação; Rio de Janeiro: EMBRAPA Solos, 2006. 412 p.

FLAIG, W.; BEUTELSPACHER, W.H.; RIETZ, E. Chemical composition and physical properties of humic substances. In: GIESEKING, J.E. (Ed.). **Soil components**. New York: Springer-Verlag, 1975. v. 1, p. 1-212.

FOX, R.H.; ROTH, G.W.; IVERSEN, K.V.; PIEKIELEK, W.P. Soil and tissue nitrate tests compared for predicting soil nitrogen availability to corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 971–974, 1989.

FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C.; OTTO, R. Stalk yield and technological attributes of planted cane as related to nitrogen fertilization. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, p. 579-590, 2010.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. **Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications)**. Washington: USDA, 1975. 20 p. (Agriculture Handbook, 379).

HART, P.B.S.; RAYNER, J.H.; JENKINSON, D.S. Influence of pool substitution on the interpretation of fertilizer experiments with “N. **Journal of Soil Science**, Oxford, v. 37, p. 389-403, 1986.

HERMAN, W.A.; MCGILL, W.B.; DORMAAR, J.F. Effects of initial chemical composition on decomposition of roots of three grass species. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 57, p. 205-215, 1977.

HERRMANN, A.; WILLETT, V.B.; STOCKDALE, E.A.; JONES, D.L. Interference by amino acids during the determination of ^{15}N ammonium in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 37, p. 1747-1750, 2005.

JACQUIN, F.; CHELOUFI, H.; VONG, P.C. Immobilization and mineralization kinetics of a nitrogen fertilizer in calcareous clayey soil (rendzina). **The Science Total Environment**, Wageningen, v. 117/118, p. 271-278, 1992.

JANSSON, S.L. Tracer studies on nitrogen transformations in soil with special attention to mineralization-immobilization relationships. **Annals of the Royal Agriculture College of Sweden**, Sweden, v. 24, p. 101-361, 1958.

JANSSON S.L.; PERSSON J. Mineralization and immobilization of soil nitrogen. In: Stevenson FJ (ed) Nitrogen in agricultural soils. **Nitrogen in agricultural soils**. Madison: American Society of Agronomy, 1982. (Agronomy, 22).

JANSSEN, B.H. Nitrogen mineralization in relation to C:N ratio and decomposability of organic materials. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 181, p. 39-45, 1996.

JENKINSON, D.S.; FOX, R.H.; RAVNER, J.H. Interactions between fertilizer nitrogen and soil nitro: gen-the so-called 'priming' effect. **Journal of Soil Science**, Oxford, v. 36, p. 425-444, 1985.

KLAPWYK, J.H.; KETTERINGS, Q.M. Soil tests for predicting corn response to nitrogen fertilizer in New York. **Agronomy Journal**, Madison, v. 98, p. 675-681, 2006.

KLAPWYK, J.H.; KETTERINGS, Q.M. Reducing analysis variability of the Illinois soil nitrogen test with enclosed griddles. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 69, p. 1129-1134, 2005.

KEENEY, D.R.; BREMNER, J.M. Comparison and evaluation of laboratory methods of obtaining an index of soil nitrogen availability. **Agronomy Journal**, Madison, v. 58, p. 498-503, 1966.

KELLEY, K.R.; STEVENSON, F.J. Forms and nature of organic N in soil. **Fertilizer Research**, Hague, v. 42, p. 1-11, 1995.

KHAN, S.A.; MULVANEY, R.L.; HOEFT, R.G.A. Simple soil test for detecting sites that are nonresponsive to nitrogen fertilization. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 1751-1760, 2001.

KONONOVA, M.M. **Soil organic matter, its nature, its role in soil formation and in soil fertility**. 2nd ed. Oxford: Pergamon, 1966. 544 p.

KWON, H.Y.; HUDSON, R.J.M.; MULVANEY, R.L. Characterization of the organic nitrogen fraction determined by the Illinois Soil Nitrogen Test. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 73, n. 3, p. 1033-1043, 2009.

LABOSKI, C.A.M.; SAWYER, J.E.; WALTERS, D.T.; BUNDY, L.G.; HOEFT, R.G.; RANDALL, G.W.; ANDRASKI, T.W. Evaluation of the Illinois soil nitrogen test in the north central region of the United States. **Agronomy Journal**, Madison, v. 100, p. 1070–1076, 2008.

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

MARIANO, E. **Mineralização e disponibilidade de nitrogênio em solos cultivados com cana-de-açúcar**. 2010. 92 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

MARZLUF, G.A. Genetic regulation of nitrogen metabolism in the fungi. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 61, p. 17-32, 1997.

MEISINGER, J.J.; BANDEL, V.A.; ANGLE, J.S.; O’KEEFE, B.E.; REYNOLDS, C.M. Presidedress soil nitrate test evaluation in Maryland. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 56, p. 1527–1532, 1992.

MERRICK, M.J.; EDWARDS, R.A. Nitrogen control in bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 59, p. 604-622, 1995.

MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A. Diffusion methods to determine different forms of nitrogen in soil hydrolysates. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 1284-1292, 2001.

MULVANEY, R.L.; LIU, Y.P. Refinement and evaluation of an automated mass spectrometer for nitrogen isotope analysis by the Rittenberg technique. **Journal of Automatic Chemistry**, London, v. 13, p. 273-280, 1991.

MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A.; ELLSWORTH, T.R. Need for a soil-based approach in managing nitrogen fertilizers for profitable corn production. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 70, p. 172–182, 2006.

MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A.; HOEFT, R.G.; BROWN, H.M. A soil organic nitrogen fraction that reduces the need for nitrogen fertilization. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 1164-1172, 2001.

MULVANEY, R.L.; FOHRINGER, C.L.; BOJAN, V.J.; MICHLIK, M.M.; HERZOG, L.F. A commercial system for automated nitrogen isotope-ratio analysis by the Rittenberg technique. **Review of Scientific Instruments**, Woodbury, v. 61, p. 897-903, 1990.

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

OTTO, R. **Desenvolvimento radicular e produtividade da cana-de-açúcar relacionados à mineralização do N do solo e à adubação nitrogenada**. 2012. 117 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

PAUL, E.A. Plant components and soil organic matter. **Recent Advances Phytochemistry**, New York, v. 3, p. 59-104, 1970.

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

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

RAO, A.C.S.; SMITH, J.L.; PAPENDICK, R.I.; PARR, J.F. Influence of added nitrogen interactions in estimating recovery efficiency of labeled nitrogen. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 55, p. 1616-1621, 1991.

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, K.S.; SINGH, M. TRIPATHI, A.K.; SINGH, M.; SAHA, M.N. Changes in amount of organic and inorganic fractions of nitrogen in an Eutrochrept soil after long-term cropping with different fertilizer and organic manure inputs. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 166, p. 232-238, 2003.

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 Sugar Cane Technology**, Veracruz, v. 27, p. 1-8, 2010.

ROTH, G.W.; FOX, R.H. Soil nitrate accumulations following nitrogen-fertilized corn in Pennsylvania. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 19, p. 243-248, 1990.

SCHNITZER, M.; HINDLE, D.A. Effects of different methods of acid hydrolysis on the nitrogen distribution in two soils. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 60, p. 237-243, 1981.

SANDANAM, S.; KRISHNAPILLAI, S.; SABARATNAM, A. Nitrification of ammonium sulphate and urea in acid Red Yellow Podzolic tea soil in Sri Lanka in relation to soil fertility. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 49, p. 9-22, 1978.

SAS INSTITUTE. **Propriety software release 6.11**. Cary, 1996.

SCHMITT, M.A.; RANDALL, G.W. Developing a soil nitrogen test for improved recommendations for corn. **Journal of Production Agriculture**, Madison, v. 7, p. 328-334, 1994.

SILVA, V.M.; TRIVELIN, P.C.O.; COLAÇO, W.; ENCARNAÇÃO, F.A.F.; CABEZAS, W.A.R.L. Mineralização volatilização do nitrogênio da vinhaça-¹⁵N na presença ou não de ureia e de palha de cana-de-açúcar. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, p. 117-123, 1999.

SOIL SURVEY STAFF. **Keys to soil taxonomy**. 11th ed. Washington: USDA, Natural Resources Conservation Service, 2010. 344 p.

STANFORD, F.; SMITH, S.J. Nitrogen mineralization potentials of soil. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 36, p. 465-472, 1972.

STE-MARIE, C.; PARÉ, D. Soil, pH, and N availability effects on net nitrification in the Forest floors of a range of boreal forest stands. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 31, p. 1579-1589, 1999.

STEVENS, W.B.; MULVANEY, R.L.; KHAN, S.A.; HOEFT, R.G. Improved diffusion methods for nitrogen and nitrogen-¹⁵ analysis of Kjeldahl digests. **Journal of AOAC International**, Gaithersburg, v. 83, p. 1039-1046, 2000.

STEVENSON, F.J. Nitrogen-organic forms. In SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T.; SUMMER, M.E. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2nd ed. Madison: SSSA; ASA, 1996. pt. 3: Chemical methods, p. 1185-1200.

SULÇE, S.; PALMA-LOPEZ, D.; JACQUIN, F.; VONG, P.C.; GUIRAUD, G. Study of immobilization and remobilization of nitrogen fertilizer in cultivated soils by hydrolytic fraction. **European Journal of Soil Science**, Amsterdam, v. 47, p. 249-255, 1996.

TRIVELIN, P.C.O.; OLIVEIRA, M.W.; VITTI, A.C.; GAVA, G.J.C.; BENDASSOLLI, J.A. Perdas do nitrogênio da uréia no sistema solo-planta em dois ciclos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 193-201, 2002.

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

VONG, P.C.; KABIBOU, I.; JACQUIN, F. Etudes des correlations entre biomasse microbienne et differentes fractions d'azote organique presentes dans deux sols lorrains. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 22, p. 385-392, 1990.

WANG, W.J.; CHALK, P.M.; CHEN, D.; SMITH, C.J. Nitrogen mineralization, imobilisation and loss, and their role in determining differences in net nitrogen production during waterlogged and aerobic incubation of soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 33, p. 1305-1315, 2001.

WICKRAMASINGHE, K.N.; RODGERS, G.A.; JENKINSON, D.S. Nitrification in acid tea soils and a neutral grassland soil: effects of nitrification inhibitors and inorganic salts. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 17, p. 249-252, 1985.

WILLIAMS, J.D.; CROZIER, C.R.; WHITE, J.G.; HEINIGER, R.W.; SRIPADA, R.P.; CROUSE, D.A. Illinois soil nitrogen test predicts southeastern U.S. corn economic optimum nitrogen rates. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 71, p. 735–744, 2007.

WOODS, L.E.; COLE, C.V.; PORTER, L.K.; COLEMAN, D.C. Transformations of added and indigenous nitrogen in gnotobiotic soil: a comment on the priming effect. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 19, p. 673-678, 1987.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Vários estudos, incluindo este trabalho, comprovaram que o nitrogênio do solo pode, realmente, satisfazer em grande parte a exigência nutricional da cultura da cana-de-açúcar. Para uma primeira soqueira, como a usada neste trabalho, a baixa contribuição do nitrogênio do fertilizante no total de N acumulado pela cultura pode estar relacionada ao aproveitamento do nitrogênio mineralizado do nativo do solo. Para tanto, contribui o N de resíduos culturais incorporados ao solo no preparo, antes do plantio, assim como, outras formas de N-orgânico incorporado em anos-safras anteriores, como o de composto de torta de filtro que permanece sendo mineralizado por anos consecutivos, após sua aplicação.

A pesquisa desenvolvida durante o “doutorado-sanduíche” junto ao Departamento de Recursos Naturais e Ciência Ambiental, Universidade de Illinois, nos EUA, demonstrou que o solo em que foi conduzido o estudo, possui elevadas concentrações de nitrogênio orgânico associado à frações lábeis, como N-aminoácido e N-aminoaçúcar, fontes potenciais de N para as plantas, o que reforça os resultados obtidos a partir das pesquisas realizadas no Brasil, que não evidenciaram respostas pronunciadas, em produtividade, da adubação nitrogenada na cultura da cana-de-açúcar em solos com elevado potencial de mineralização.

As formas de nitrogênio (amídica ou amoniacal), aplicadas via fertilização, por diferirem quanto às reações no solo, interferem diretamente nos processos de mineralização e imobilização, sendo o amônio, a forma preferencial de N imobilizada pelos microrganismos. Foi possível comprovar, ainda, que a taxa de imobilização do N mineral disponível no solo é, em média, 30% mais elevada em solos com incorporação de resíduo vegetal de elevada relação C/N, o que pode validar a hipótese de que em sistema de “cana-crua”, em que uma quantidade significativa de resíduos vegetais (15 a 20 Mg ha⁻¹) permanece sobre a superfície do solo, a baixa eficiência da adubação nitrogenada se deve, em parte, a imobilização do N do fertilizante pelos microrganismos.

O cloreto de amônio, na dose de 100 kg ha⁻¹ de N, parece ser viável para ser, eventualmente, usado como fonte de nitrogênio na cultura da cana-de-açúcar, tendo em vista, que o aproveitamento do N dessa fonte pela cana-de-açúcar não é diferente do N de fertilizantes tradicionalmente utilizados na cultura, como ureia e sulfato de amônio. Entretanto, com base nos resultados de incubação de solo em laboratório, apresentados neste trabalho, mais estudos se

fazem necessário, visando avaliar o acúmulo do íon cloreto no solo causado pelo uso dessa fonte em ciclos agrícolas consecutivos.

O uso de alta dose de cloreto de amônio em cana-de-açúcar leva a redução na produtividade de colmos da cultura, principalmente, quando associado a outros fertilizantes clorados, como o cloreto de potássio. No entanto, as causas dos efeitos negativos nas plantas, devido ao excesso de cloro no solo, ainda são pouco conhecidas. Trabalhos da literatura demonstraram que o íon cloreto inibe a nitrificação, constituindo-se em um potencial biocida no solo. Dessa forma, com base em constatações deste e outros trabalhos, o seguinte questionamento pode ser formulado: será que os efeitos tóxicos causados pelo íon cloreto nos microrganismos não ocorreriam também nas plantas?

É fato, que o manejo inadequado aliado ao uso intensivo de fertilizantes, especialmente os clorados têm contribuído para o aumento de áreas agricultáveis com problemas de excesso de sais, especialmente, em regiões em que a evapotranspiração excede a precipitação pluviométrica, fazendo-se necessário o uso de fontes, principalmente, as potássicas, isentas ou, ao menos, com menores concentrações de cloro.