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

**Eficiência de uso da ^{15}N -ureia tratada com ácido bórico e sulfato de cobre
pelo milho**

Nicole Colombari Cheng

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

**Piracicaba
2018**

Nicole Colombari Cheng
Engenheira Agrônoma

Eficiência de uso da ^{15}N -ureia tratada com ácido bórico e sulfato de cobre pelo milho

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

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

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

Piracicaba
2018

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

Cheng, Nicole Colombari

Eficiência de uso da ^{15}N -ureia tratada com ácido bórico e sulfato de cobre pelo milho / Nicole Colombari Cheng. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2018.

113 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Fertilizantes de eficiência aumentada 2. Inibidores de urease 3. Volatilização de NH_3 4. *Zea mays* L. 4. NBPT 6. Boro 7. Fertilizantes estabilizados 8. Técnica isotópica
I. Título

Aos meus amados pais Cheng Yung Hsiang e Janine Colombari,
Ao meu irmão e amigo Arthur Colombari Cheng e
à minha avó Faustina Gigli Colombari,
pelo amor, incentivo, carinho e compreensão

DEDICO E OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, acima de tudo, pela vida e por me guiar em todas as etapas desta caminhada.

Ao Prof. Paulo C. O. Trivelin, pelo privilégio de sua orientação. Pelos ensinamentos, companheirismo e compreensão, nesses dois anos que passaram tão rápido e me permitiu vivenciar experiências tão valiosas. Serei eternamente grata pela oportunidade e pelo voto de confiança concedidos a mim.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), bem como o Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, pela oportunidade de cursar o mestrado, ensino de excelência e infraestrutura.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos (Processo nº 131197/2016-9) e ao suporte financeiro do projeto que contemplou esta dissertação (Processo nº 403358/2013-2).

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), especialmente o Laboratório de Isótopos Estáveis (LIE), pelo amparo laboratorial e técnico.

À Fertilizantes HERINGER S.A., pela troca de conhecimento e apoio financeiro com bolsas de Iniciação Científica para os estudantes de graduação Catia Betania Cruz Pereira e Mateus da Silva Lopes Rodrigues que muito auxiliaram na condução do experimento em casa de vegetação e em trabalhos laboratoriais.

Aos pós-doutorandos Eduardo Mariano e Carlos Roberto Sant’Ana Filho, pela amizade, solicitude, conhecimento compartilhado e auxílio na idealização e condução da proposta de pesquisa que concebeu esta dissertação.

Aos meus colegas de Pós-Graduação Beatriz N. Boschiero, Hugo A. G. Villalba, Bruno P. Moschini, Pedro L. Garcia e Luis F. Rinaldi, pelo convívio fraterno, colaboração, companheirismo e momentos de descontração compartilhados.

À equipe do Laboratório de Isótopos Estáveis - CENA/USP: Prof. Dr. José A. Bendassoli, José A. Bonassi, Magda M. G. Bartolamei, Bento M. Moraes Neto, Clelber V. Prestes e Miguel L. Bladessin, pelos laços sinceros de cordialidade construídos no ambiente de trabalho. Em especial, agradeço aos técnicos Hugo H. Batagello e Ana Paula G. M. Duarte pela amizade, atenção e apoio.

Aos estagiários Henrique C. Mendes, Letícia S. Fritsche, Catherine M. Zulian, Mayara A. Arioze, Elis Dias, Cátia B. C. Pereira, Mateus Rodrigues, Gustavo J. Soares e Maick M. Gonzaga, pelo auxílio e colaboração durante a condução dos experimentos.

A todos os colegas do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ/USP que convivi durante o período do curso de Mestrado.

A todos aqueles não mencionados nominalmente que contribuíram para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA.

*“O que nos causa problema não é o que não sabemos.
É o que temos certeza que sabemos e que, no final, não é verdade”*

Mark Twain, escritor americano (1835 - 1910)

*“Aguarda as surpresas do tempo, sem precipitação...
Não te esqueças de que o êxito seguro não é de quem o assalta,
mas sim daquele que sabe agir, perseverar e esperar por ele”*

Francisco Cândido Xavier, escritor brasileiro (1910 - 2002)

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
1 INTRODUÇÃO.....	11
REFERÊNCIAS	13
2 VOLATILIZAÇÃO DE AMÔNIA DA UREIA REVESTIDA COM ÁCIDO BÓRICO E SULFATO DE COBRE APLICADA SUPERFICIALMENTE AO SOLO	17
RESUMO	17
ABSTRACT	17
2.1. INTRODUÇÃO	18
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
2.4. CONCLUSÕES	30
REFERÊNCIAS	30
3 APROVEITAMENTO DE NITROGÊNIO (^{15}N) E BORO DA UREIA TRATADA COM ÁCIDO BÓRICO E SULFATO DE COBRE PELO MILHO	39
RESUMO	39
ABSTRACT	39
3.1. INTRODUÇÃO	40
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.2.1. Instalação e condução experimental	42
3.2.2. Delineamento experimental, tratamentos e caracterização dos fertilizantes	46
3.2.3. Avaliações	49
3.2.4. Perdas de N-NH_3 por volatilização.....	50
3.2.5. Biometria e valor SPAD	51
3.2.6. Análise morfológica do sistema radicular	51
3.2.7. Aproveitamento do N-fertilizante.....	52
3.2.8. Aproveitamento do B-fertilizante.....	53
3.2.9. Análise estatística	54
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
3.3.1. Volatilização de NH_3	54
3.3.2. Produção de biomassa seca e crescimento	59
3.3.3. Morfologia do sistema radicular.....	65
3.3.4. Acúmulo de N e aproveitamento do N-fertilizante	70
3.3.5. Balanço do ^{15}N no sistema solo-planta.....	77
3.3.6. Acúmulo de B e aproveitamento do B-fertilizante.....	81
3.4. CONCLUSÕES	84

REFERÊNCIAS.....	85
ANEXOS	107
APÊNDICES.....	109

RESUMO

Eficiência de uso da ^{15}N -ureia tratada com ácido bórico e sulfato de cobre pelo milho

O N é um nutriente empregado em grandes quantidades nos sistemas de produção agrícola e o mais limitante para a produção de gramíneas. A ureia é o fertilizante nitrogenado (N-fertilizante) mais usado no mundo e o principal foco da indústria mundial de fertilizantes tecnologicamente aperfeiçoados, sendo altamente suscetível à perdas por volatilização de amônia (NH_3), quando aplicada sobre superfície do solo. Com intuito de minimizar o impacto ambiental e aumentar a eficiência de N, o uso de inibidores de urease é uma das tecnologias mais promissoras e menos onerosas. Adicionalmente, inibidores de urease inorgânicos constituídos por elementos essenciais às plantas, como ácido bórico (H_3BO_3) e sulfato de cobre (CuSO_4), podem suplementar nutricionalmente os sistemas agrícolas de produção. Neste contexto, foram desenvolvidos dois experimentos, em condições controladas de laboratório e casa de vegetação, com os seguintes objetivos: i) quantificar as perdas por volatilização de NH_3 a partir da aplicação superficial da ureia tratada com doses variadas de H_3BO_3 e CuSO_4 , em câmara fechada; ii) avaliar a eficiência de uso de N e B em dois estádios vegetativos do milho a partir da aplicação em superfície da ^{15}N -ureia tratada com H_3BO_3 e CuSO_4 , em condições controladas de casa de vegetação. No experimento de laboratório, não houve interação entre as doses de B e Cu ou qualquer efeito do Cu sobre as perdas de NH_3 por volatilização. O aumento de H_3BO_3 no tratamento da U atrasou as perdas diárias de NH_3 e reduziu ($P < 0,001$) as perdas cumulativas de volatilização de NH_3 . As doses de B apresentaram ajuste quadrático e, com base na análise de regressão, a dose estimada de máxima eficiência é atingida com 0,88% B no recobrimento da U. Em condições de casa de vegetação, os inibidores de urease atrasaram e reduziram as perdas de NH_3 por volatilização. Ao longo de 15 dias após a fertilização, o tratamento com H_3BO_3 promoveu reduções na volatilização de NH_3 que variaram de 6 a 17% em relação à ureia não tratada, ocorrendo diferenciação entre doses de B. Os tratamentos com maiores doses de B não diferiram do tratamento com N-(*n*-butil) tiofosfórico triamida (NBPT) em produção de biomassa de milho. A altura de plantas, diâmetro de colmo e índice de área foliar não apresentaram diferenças entre N-fertilizantes. A morfologia do sistema radicular do milho foi afetada pelo uso de inibidores no estágio V8. O aumento de H_3BO_3 no revestimento da ureia aumentou em média 10% a eficiência de uso do N-fertilizante (EUN-F), em relação à ureia não tratada. Em VT, não houve diferença para EUN-F entre os tratamentos NBPT e maior dose de H_3BO_3 (0,88% B). O tratamento da ureia com H_3BO_3 aumentou proporcionalmente o acúmulo de B na planta. A adição de CuSO_4 não afetou a volatilização de NH_3 e a EUN-F. O recobrimento da ureia com H_3BO_3 foi uma estratégia eficiente em reduzir as perdas de N, aumentar a EUN-F e fornecer B às plantas.

Palavras-chave: Volatilização de amônia; *Zea mays* L.; Fertilizantes de eficiência aumentada; Fertilizantes estabilizados; Boro; NBPT

ABSTRACT

Nitrogen (^{15}N) use efficiency in maize as affected by urea treated with boric acid and copper sulfate

N is a nutrient used in large quantities in agricultural production systems and it is the most limiting element for production of grasses. Urea is the most widely used nitrogen fertilizer (N fertilizer) in the world and the main focus of the worldwide industry of fertilizers technologically improved, being highly susceptible to losses by volatilization of ammonia (NH_3) when applied on soil surface. In order to minimize environmental impact and increase N efficiency, the use of urease inhibitors is one of the most promising and least expensive technologies. In addition, inorganic urease composed for essential elements for plants, such as boric acid (H_3BO_3) and copper sulfate (CuSO_4), can nutritionally supplement agricultural production systems. In this context, two experiments were carried out under controlled conditions (laboratory and greenhouse) with the following objectives: i) laboratory: to quantify NH_3 volatilization losses from the surface application of urea treated with different rates of H_3BO_3 and CuSO_4 , using closed chamber; (ii) greenhouse: to evaluate the N and B use efficiency from surface application of ^{15}N urea treated with H_3BO_3 and CuSO_4 in two vegetative stages of maize. In the laboratory experiment, there was no interaction between B and Cu rates or any Cu effect on NH_3 losses by volatilization. The increase of H_3BO_3 in the treatment of urea delayed the daily losses of NH_3 and reduced ($P < 0.001$) the cumulative volatilization losses of NH_3 . The rates of B showed a quadratic adjustment and, based on the regression analysis, the estimated rate of maximum efficiency was 0.88% B. Under greenhouse conditions, urease inhibitors delayed and decreased the losses of NH_3 by volatilization. Over 15 days after fertilization, treatment with H_3BO_3 promoted reductions in NH_3 volatilization ranging from 6 to 17% compared to untreated urea, and occur differentiation between B rates. The treatments with higher rates of B did not differ from the treatment with N-(*n*-butyl) thiophosphoric triamide (NBPT) in maize biomass production. The plant height, stem diameter and leaf area index did not show differences between N fertilizers. The morphology of the maize root system was affected by the use of urease inhibitors only in stage V8. The increase of H_3BO_3 in the urea coating increased on average 10% the efficiency of use of N fertilizer (NUE-F) in relation to untreated urea. In VT growth stage, there was no difference for NUE-F between treatments NBPT and higher rate of H_3BO_3 (0.88% B). Treatment of U with H_3BO_3 increased proportionally the accumulation of B in the plant. The addition of CuSO_4 did not affect volatilization of NH_3 and NUE-F. Urea coating with H_3BO_3 was an efficient strategy to reduce N losses, to increase the NUE-F and to supply B for plants.

Keywords: Ammonia volatilization; *Zea mays* L.; Enhanced efficiency fertilizers; Stabilized fertilizers; Boron; NBPT

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é o cereal mais produzido do mundo, o que compreende na produção global aproximada de 1 bilhão de Mg (FAO, 2016). Com o milho de segunda safra superando a produção de primeira safra, o Brasil é atualmente o terceiro maior produtor e o segundo maior exportador mundial de grãos da cultura. Com base na estimativa de safra 2016/2017, frente ao incremento de 10% em relação ao ano safra anterior, a área brasileira cultivada com milho foi situada em torno de 18 milhões de ha. A produtividade média nacional foi confirmada acima de 5,5 Mg ha⁻¹, um recorde nacional que proporcionou estimar a produção total em 97,7 milhões de Mg do grão (CONAB, 2017). Ainda que sejam números significativos em termos absolutos, a produtividade brasileira média ainda é baixa em comparação aos Estados Unidos (11 Mg ha⁻¹), o maior produtor mundial (USDA, 2016), o que reforça a necessidade de aumento nos patamares produtivos nacionais para assegurar a competitividade de mercado.

A cultura do milho é altamente responsiva em N, nutriente mais limitante para maioria das culturas não leguminosas e aplicado em quantidades expressivas em sistemas de produção mais intensivos. No Brasil, a baixa produtividade de milho está diretamente relacionada a baixa eficiência de uso de N (EUN) pela cultura que, em grande parte, associa-se ao baixo aproveitamento da adubação nitrogenada do cereal sob condições tropicais (LARA-CABEZAS et al., 2000; GAVA et al., 2006; DUETE et al., 2009). O fertilizante nitrogenado mais utilizado na produção brasileira de milho é a ureia, fonte de N menos onerosa e de maior concentração de N em relação às demais opções. Embora seja atrativa em termos econômicos, esta fonte amídica apresenta baixa eficiência quando aplicada em superfície, devido à alta suscetibilidade de perdas de N por volatilização de amônia (NH₃) durante o processo de hidrólise do fertilizante (KIEHL, 1989; SOOMER; SCHJOERRING; DENMEAD, 2004; ROCHETTE et al., 2013).

As perdas de NH₃ por volatilização não reduzem somente o retorno financeiro pelo uso de fertilizantes nitrogenados, como também causam impactos ao ambiente. Ainda que não seja um gás de efeito estufa (GEE), a NH₃ é um poluente atmosférico de papel importante na formação de aerossóis e, portanto, está relacionado à degradação da qualidade do ar e ao efeito de mudança climática (BEHERA et al., 2013; JIANG et al., 2017). Além dos efeitos atmosféricos, o retorno do NH₃ emitido aos corpos d'água e ao solo, pode intensificar a acidificação e eutrofização do solo, afetando os processos cíclicos e a biodiversidade dos ecossistemas naturais (LIU et al., 2013; BEHERA et al., 2013).

Uma das estratégias para mitigar o potencial de poluição ambiental e aumentar a EUN das culturas compreende no uso de fertilizantes tecnologicamente aprimorados, denominados de “fertilizantes de eficiência aumentada” (FEA) (TRENKEL, 2010). Dentre os FEA, os fertilizantes tratados com aditivos que induzem a redução de perdas de NH_3 , como os inibidores de urease, são geralmente beneficiados industrialmente de modo menos complexo e, portanto, são menos dispendiosos em relação aos de liberação lenta e controlada (GUELF, 2017).

Com mais de 14.000 compostos sendo estudados como inibidores de urease (KISS; SIMIHAIAN, 2002), o ácido bórico (H_3BO_3) é um dos inibidores inorgânicos de destaque na atualidade. A inibição da urease pelo H_3BO_3 foi demonstrada por estudos moleculares de Benini et al. (2004). Conforme relatado pelos autores, o mecanismo de inibição do H_3BO_3 é explicado pelo alocamento simétrico da molécula entre os dois átomos de Ni da enzima urease, devido às similaridades de arranjo estrutural do H_3BO_3 com a ureia. Embora alguns trabalhos recentes tenham explorado doses não convencionais do inibidor (NOMMIK, 1973; SOARES, 2011; STAFANATO et al., 2013), poucos se sabe sobre os reflexos do aumento da concentração do H_3BO_3 no recobrimento da ureia na EUN pelas plantas e, menos ainda, acerca do aproveitamento nutricional de B do recobrimento de grânulos desse aditivo.

Vários estudos descrevem a ação de metais como inibidores da enzima urease (SHAW, 1954; TYLER, 1974; TABATABAI, 1977). Segundo a escala de inibição descrita por Shaw (1954), o Cu^{2+} é um dos principais cátions metálicos de maior afinidade com os grupos sulfidrilas da enzima urease e, assim, aparenta ser mais eficiente na formação de sulfitos insolúveis para inativação da ação enzimática da molécula em comparação à outros metais, como os micronutrientes Zn e Ni. Entretanto, diferentemente do H_3BO_3 , a eficácia de ação do Cu sobre a enzima ainda não é bem esclarecida. A inconsistência do modo de ação do metal é tratada em estudos mais recentes que não atestaram sua eficiência de inibição, quando aplicado ao solo (CHAPERON; SAUVÉ, 2008; SOARES, 2011).

O efeito sinérgico entre os inibidores de urease é um aspecto ainda pouco explorado na literatura. A dificuldade justamente está em distinguir qual a contribuição de cada aditivo na redução da atividade da enzima e a compatibilidade desses componentes em associação conjunta. Com isso, seja em associação ou isolados, explorar sob uma nova perspectiva as reais aptidões dos componentes adicionados a U torna-se indispensável para dimensionar com maior precisão ao que se deve atribuir o título de “eficiência aumentada” desses fertilizantes.

Com base nesse estado da arte, foram possíveis formular as seguintes hipóteses para o direcionamento do presente estudo:

- i) A adição de CuSO_4 ao recobrimento da ureia apresenta baixa ação de inibição sobre a atividade da enzima urease e, portanto, não é um componente efetivo para reduzir a volatilização de NH_3 desta fonte.
- ii) Em uma associação conjunta entre os inibidores H_3BO_3 e Cu^{+2} , o revestimento da ureia com CuSO_4 pode ser reduzido ou dispensado, uma vez que o efeito isolado do H_3BO_3 proporciona igual eficiência de uso de N pelo milho;
- iii) O aumento da proporção de H_3BO_3 no recobrimento da ureia promove maior mitigação de perdas de NH_3 por volatilização e, consequentemente, otimização da eficiência de uso do N-fertilizante.
- iv) A ureia tratada com H_3BO_3 é um FEA de dupla aptidão, pois aumenta a eficiência de uso do N pelas plantas ao mesmo tempo que fornece o micronutriente B, desempenhando o aditivo papel concomitante de inibidor de urease e fonte de micronutriente às plantas.

Para testar as hipóteses formuladas, o estudo foi dividido em dois capítulos para atender os respectivos objetivos:

- a) Quantificar as perdas de volatilização de NH_3 a partir da aplicação superficial da ureia tratada com H_3BO_3 e CuSO_4 , sob sistema fechado e condições controladas.
- b) Avaliar a eficiência de uso de N e B em dois estádios vegetativos do milho a partir da aplicação em superfície da ^{15}N -ureia tratada com H_3BO_3 e CuSO_4 , em condições controladas de casa de vegetação.

Referências

- BEHERA, S.N.; SHARMA, M.; ANEJA, V.P.; BALASUBRMANIAN, R. Ammonia in the atmosphere: a review on emission sources, atmospheric chemistry and deposition on terrestrial bodies. **Environmental Science and Pollution Resesearch**, v. 20, n. 11, p. 8092-8131, 2013.
- BENINI, S.; RYPNIEWSKI, W.R.; WILSON, K.S.; MANGANI, S.; CIURLI, S. Molecular details of urease inhibition by boric acid: insights into the catalytic mechanism. **Journal of American Chemistry Society**, v. 126, n. 2, p. 3714-3715, 2004.

CHAPERON, S; SAUVÉ, S. Toxicity interactions of cadmium, copper, and lead on soil urease and dehydrogenase activity in relation to chemical speciation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 70, n. 1, p.1-9, 2008.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: milho, safra 2016/2017 - décimo segundo levantamento**. Brasília, 2017. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_09_12_10_14_36_boletim_graos_setembro_2017.pdf>. Acesso em: 05 de outubro de 2017.

DUETE, R.R.C.; MURAOKA, T.; SILVA, E.C.; AMBROSANO, E.J.; TRIVELIN, P.C.O. Acúmulo de nitrogênio (^{15}N) pelos grãos de milho em função da fonte nitrogenada em Latossolo vermelho. **Bragantia**, v. 68, n. 2, p. 463-472, 2009.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/>>. Acesso em: 05 de outubro de 2017.

GAVA, G.J.C.; TRIVELIN, P.C.O.; OLIVEIRA, M.W.; HEINRICHS, R.; SILVA, M.A. Balanço do nitrogênio da ureia (^{15}N) no sistema solo-planta na implantação da semeadura direta na cultura do milho. **Bragantia**, v. 65, p. 477-486, 2006.

GUELF, D. Fertilizantes nitrogenados estabilizados, de liberação lenta ou controlada. **Informações Agronômicas - IPNI**. N. 157, p. 1-14, 2017.

JIANG, Y.; DENG, A.; BLOSZIES, S.; HUANG, S.; ZHANG, W. Nonlinear response of soil ammonia emissions to fertilizer nitrogen. **Biology and Fertility of Soils**, v. 53, n. 3, p. 269-274, 2017.

KIEHL, J.C., Distribuição e retenção da amônia no solo após aplicação de ureia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 13, p. 75-80, 1989.

KISS, S.; SIMIHAIAN, M. **Improving efficiency of urea fertilizers by inhibition of soil urease activity**. Norwell: Kluwer Academic. 2002. 341p.

- LARA-CABEZAS, W.A.R.; TRIVELIN, P.C.O., KONDORFER, G.R.; PEREIRA, S. Balanço da adubação nitrogenada sólida e fluida de cobertura na cultura do milho, em sistema de plantio direto no triângulo mineiro (MG). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 2, 363-376, 2000.
- LIU, X.; ZHANG, Y.; HAN, W.; TANG, A.; SHEN, J.; CUI, Z.; VITOUSEK, P.; ERISMAN, J.W.; GOULDING, K.; CHRISTIE, P.; FANGMEIER, A.; ZHANG, F.; Enhanced nitrogen deposition over China, **Nature**, v. 494, p. 459-462, 2013.
- NOMMIK, H. The effect of pellet size on the ammonia loss from urea applied to forest soil. **Plant and Soil**, v. 39, n. 2, p. 309-318, 1973.
- ROCHETTE, P.; ANGERS, D.A.; CHANTIGNY, M.H.; GASSER, M.O.; MACDONALD, J.D.; PELDSTER, D.E.; BERTRAND, N. Ammonia volatilization and nitrogen retention: how deep to incorporate urea? **Journal of Environmental Quality**, v. 42, n. 6, p. 1635-1642, 2013.
- SHAW, W.H.R. The inhibition of urease by various metal Ions. **Journal of America Chemical Society**, v. 76, p. 2160-2163, 1954.
- SOARES, J. R. **Efeito de inibidores de urease e de nitrificação na volatilização de NH₃ pela aplicação superficial de ureia no solo**. 2011. 79p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 2011.
- SOMMER, S.G.; SCHJOERRING, J.K.; DENMEAD, O.T. Ammonia emission from mineral fertilizers and fertilized crops. **Advances in Agronomy**, v. 82, p. 557-622, 2004.
- STAFANATO, J.B.; GOULART, R. de S.; ZONTA, E.; LIMA, E.; MAZUR, N.; PEREIRA, C.G.; SOUZA, H.N. de. Volatilização de amônia oriunda de ureia pastilhada com micronutrientes em ambiente controlado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, n. 3, p. 726-732, 2013.

TABATABAI, M.A. Effects of trace elements on urease activity. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 9, p. 9-13, 1977.

TRENKEL, M.E. **Slow and controlled-release and stabilized fertilizers:** An option for enhancing nutrient use efficiency in agriculture. Paris: International Fertilizer Industry Association, 2010. 167p.

TYLER, G. Heavy metal pollution and soil enzymatic activity. **Plant and Soil**, v. 41, p. 303-311, 1974.

USDA. United States Department of Agriculture. **Foreign Agricultura Service**. Disponível em: <<http://www.usda.gov>> Acesso em: 05 de outubro de 2017.

2 VOLATILIZAÇÃO DE AMÔNIA DA UREIA REVESTIDA COM ÁCIDO BÓRICO E SULFATO DE COBRE APLICADA SUPERFICIALMENTE AO SOLO

RESUMO

A ureia (U) é tradicionalmente o fertilizante nitrogenado mais utilizado no mundo. Com o intuito de reduzir as perdas por volatilização de NH_3 , o tratamento da U granulada com inibidores de urease, como o ácido bórico (H_3BO_3) e cobre, é uma das estratégias menos onerosas para aprimoramento tecnológico desse fertilizante. Diante disso, este estudo objetivou quantificar as perdas por volatilização de NH_3 da aplicação superficial de U tratada com H_3BO_3 e sulfato de cobre (CuSO_4), em condições controladas de laboratório. Os tratamentos foram constituídos de um fatorial completo com cinco doses de B (0, 0,40, 0,52, 0,64 e 0,76% B) e quatro doses de Cu (0, 0,05, 0,10 e 0,15% Cu), mais um tratamento adicional (sem fertilizante). A interpretação estatística foi realizada com base na análise de superfície de resposta e, na ausência de interação, pela análise de regressão. Não houve interação entre as doses de B e Cu para as perdas diárias e cumulativas de NH_3 , o que excluiu o efeito sinérgico entre inibidores. Sem resposta para doses de Cu, o uso isolado de CuSO_4 não foi eficiente em mitigar as perdas de NH_3 por volatilização em comparação à U sem tratamento. Os tratamentos com H_3BO_3 atrasaram e reduziram as perdas de NH_3 em relação à U não tratada. A partir do ajuste quadrático das doses de B constatou-se que o aumento das mesmas resultou em menores perdas de NH_3 por volatilização, sendo a dose de máxima eficiência estimada em 0,88% B.

Palavras-chave: Perdas de amônia; Inibidor de urease; Ureia estabilizada; Fertilizantes de eficiência aumentada

ABSTRACT

Urea (U) is traditionally the most used nitrogen fertilizer in the world. In order to reduce NH_3 volatilization losses, the treatment of granulated U with urease inhibitors, such as boric acid (H_3BO_3) and copper, is one of the least expensive strategies for the technological improvement of this fertilizer. Therefore, this study aimed to quantify losses by NH_3 volatilization from the application on soil surface of U treated with H_3BO_3 and copper sulfate (CuSO_4) under controlled laboratory conditions. The treatments were constituted in a complete factorial scheme with five B rates (0, 0.40, 0.52, 0.64 and 0.76% B) and four Cu rates (0, 0.05, 0.10 e 0.15% Cu), plus an additional treatment (without fertilizer). The statistical interpretation was based on the response surface analysis and by regression analysis in the absence of interaction. There was no interaction between B and Cu rates for daily and cumulative NH_3 losses, which excluded the synergistic effect between inhibitors. Without response for Cu rates, the isolated use of CuSO_4 was not efficient to mitigate NH_3 losses by volatilization relative to untreated U. Treatments with H_3BO_3 delayed and reduced NH_3 losses compared to the untreated U. From the quadratic adjustment of B rates, when increased B rates decreased NH_3 losses by volatilization, and the maximum efficiency rate was estimated in 0.88% B.

Keywords: Ammonia losses; Urease inhibitor; Stabilized urea; Enhanced efficiency fertilizers

2.1 Introdução

A aplicação de fertilizantes nitrogenados sintéticos é uma das principais fontes de emissões de N na forma de amônia (NH_3) no mundo, contribuindo com aproximadamente 17% das emissões globais (PAULOT et al., 2014). Embora a NH_3 não seja considerada um gás do efeito estufa, a emissão deste gás para a atmosfera causa impactos ambientais negativos sobre a qualidade atmosférica (ZAMAN; BLENNERHASSET, 2010; WANG et al., 2015) e a biodiversidade dos ecossistemas, pela eutrofização dos corpos d'água e a acidificação do solo (SUTTON et al., 2008; CONLEY et al., 2009). Além disso, a deposição de NH_3 por volatilização pode contribuir indiretamente para emissão de óxido nitroso (N_2O), gás de efeito estufa cerca de 300 vezes mais potente que o dióxido de carbono (CO_2) (IPCC, 2006; ZAMAN et al., 2009). Diante disso, o aumento da eficiência de fertilizantes é um aspecto importante para a redução dos impactos ambientais e dos custos de produção agrícola (SOOMER; SCHJOERRING; DENMEAD, 2004; CHIEN; PROCHNOW; CANTARELLA, 2009; PAN et al., 2016).

A ureia ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) é o fertilizante nitrogenado mais utilizado no mundo, representando 60% da comercialização global de fertilizantes nitrogenados (HEFFER; PRUD'HOMME, 2015), devido à elevada concentração de N, baixo custo por unidade do nutriente e menores restrições comerciais ao seu uso (CANTARELLA, 2007). Apesar dos benefícios econômicos em relação a outras fontes nitrogenadas mais estáveis, como o sulfato de amônio e nitrato de amônio, esse fertilizante amídico comumente apresenta menos eficiência de uso, quando aplicado em superfície (LARA-CABEZAS et al., 2000; TRIVELIN et al., 2002; SANGOI et al., 2003). Quando aplicada sobre o solo, a ureia é rapidamente hidrolisada pela enzima urease, ocasionando liberação do N na forma amoniacal. O processo de hidrólise requer o consumo de prótons do meio (H^+), o que promove a elevação do pH ao redor dos grânulos (OVERREIN; MOE, 1967; ROCHETTE et al., 2009) e, assim, formação de NH_3 e CO_2 , os quais são facilmente perdidos para atmosfera devido ao caráter volátil destas moléculas, especialmente se arrastadas do solo à atmosfera pela evaporação da água (BREMNER, 1995).

Em resposta às condições que inviabilizam a incorporação natural ou mecanizada da ureia ao solo, especialmente pela adoção de sistemas mais conservacionistas, tais como a semeadura direta, cultivo mínimo e colheita de cana sem queima, desde a década de 60, vários materiais têm sido testados pela indústria para recobrimento e proteção dos grânulos de fertilizantes, visando reduzir as perdas e aumentar o aproveitamento de N-ureia pelas plantas

(TOMASZEWSKA; JAROSIEWICZ; KARAKULSKI, 2002). Nesse segmento, estudos tem apresentado resultados promissores com o uso de inibidores de urease, substâncias que promovem a inibição temporária da atividade da enzima, reduzindo a taxa de conversão do N-amídico (NH_2) para o N-amoniacal (NH_4^+) (KISS; SIMIHAIAN, 2002; TRENKEL, 2010).

Os inibidores de urease são classificados em três grupos, de acordo com Krajewska, Zaborska e Chudy (2004). O primeiro grupo se refere aos compostos que promovem a inibição não competitiva pela reação com grupos sulfidrilas da urease, inativando o sítio ativo da enzima. Neste segmento estão incluídos os íons metálicos, como o Hg^+ , Ag^+ , Cu^{+2} , os quais se diferenciam pelo produto da solubilidade do complexo metal-sulfeto. O segundo grupo abrange as substâncias análogas à ureia, como o NBPT [N-(*n-butyl*) tiofosfórico triamida], ácido bórico (H_3BO_3) e demais ureias substituídas. A inibição por esses compostos ocorre de forma competitiva, pois são substratos que concorrem com a U pelo mesmo sítio da enzima. Menos explorado, o terceiro e último grupo é formado por inibidores não competitivos que reagem com o átomo de Ni da enzima, como os ácidos caprilohidroxâmico e hidroxâmicos.

Embora a eficácia de inibição por compostos inorgânicos não competitivos seja muito variável (TYLER, 1974; TABATABAI, 1977; BREMNER; MCCARTY; HIGUCHI, 1991), quando constituídos por elementos essenciais às plantas, os inibidores de menor eficiência podem promover efeito sinérgico em associação com inibidores mais eficientes e, adicionalmente, melhorar o aporte nutricional das plantas. Ainda pouco explorada, a otimização do efeito dos inibidores de urease pela associação conjunta e/ou ajuste de doses no revestimento pode ser considerada uma alternativa menos onerosa e de fácil aplicabilidade em comparação às outras tecnologias, como o recobrimento com polímeros e a incorporação de aditivos ao grânulos (YANG, 2012; DOMINGHETTI et al., 2016).

Pelo exposto, objetivou-se neste estudo quantificar as perdas de NH_3 por volatilização a partir da aplicação em superfície da ureia tratada com distintas doses de H_3BO_3 e CuSO_4 , sob sistema fechado.

2.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Isótopos Estáveis (LIE) do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), no município de Piracicaba, SP (22°42'S 47°38'O), no período de 09 de maio a 04 de junho de 2016. A temperatura do ambiente foi controlada por sistema de refrigeração ajustado para 25°C, sendo as variações de temperatura

e umidade registradas a cada 15 minutos com o auxílio de um data logger. A média de temperatura no ambiente de experimentação foi de 22°C, sendo os picos médios de máximo e mínimo de 24°C e 21°C, respectivamente.

O solo do estudo foi coletado em área cultivada usualmente com culturas anuais, no município de Iracemápolis, SP (22°39'S 47°31'O), classificado como Latossolo Vermelho distrófico (EMBRAPA, 2013), de textura argilosa, correspondente a um Rhodic Haplustox (SOIL SURVEY STAFF, 2014). A amostragem do solo foi realizada na camada superficial, isenta de resíduos culturais superficiais, no início de abril de 2016. Para fins de condicionamento, o solo foi seco a 40°C, em estufa de circulação forçada de ar, destorroado e peneirado com malha de 2 mm de abertura. A caracterização físico-química do solo foi determinada pela análise química, segundo Raij et al. (2001), e granulométrica, pelo método do densímetro (GEE; BAUDER, 1986), e apresentou a descrição das seguintes propriedades: pH (CaCl₂) = 5,1; C total (colorimetria) = 18 g kg⁻¹; N total = 1,2 g kg⁻¹; P extraível (resina) = 39 mg kg⁻¹; S extraível = 16 mg kg⁻¹; K trocável = 5,7 mmolc kg⁻¹; Ca trocável = 28 mmolc kg⁻¹; Mg trocável = 11 mmolc kg⁻¹; Acidez potencial (H+Al) = 34 mmolc kg⁻¹; Al trocável = 1 mmolc kg⁻¹; Capacidade de troca catiônica = 78 mmolc kg⁻¹; Saturação de bases = 57%; Argila = 494 g kg⁻¹; Silte = 162 g kg⁻¹; Areia total = 345 g kg⁻¹. A capacidade máxima de retenção de água (CRMA) foi determinada pela diferença entre os valores de solo saturado, pré-drenado em areia, e solo seco a 105°C. Com base na massa seca de solo; a CRMA foi valorada em 0,328 g g⁻¹ solo.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com três repetições, e esquema fatorial completo com duas variáveis quantitativas. A casualização em blocos foi utilizada para minimizar possíveis oscilações microclimáticas do ambiente. Os tratamentos foram constituídos pelo recobrimento da ureia com cinco doses de B (0, 0,40, 0,52, 0,64 e 0,76% B) e quatro doses de Cu (0, 0,05, 0,10 e 0,15% Cu). As doses foram definidas a partir de uma relação de B e Cu próxima ao fertilizante comercial “FH Nitro Mais”, fertilizante nacionalmente comercializado na proporção de 0,40% B e 0,15% Cu, registrado pela patente brasileira PI 0700921-6 A (HERINGER, 2008). Para descontar a volatilização de NH₃ oriunda do próprio solo, foi incluído um tratamento controle, sem a aplicação de fertilizante. O tratamento da ureia foi realizado no Laboratório de Isótopos Estáveis (LIE-CENA/USP) com os reagentes de ácido bórico (H₃BO₃) e sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄.5H₂O).

As unidades experimentais foram compostas por câmaras fechadas estáticas, constituídas por um recipiente com tampa de polietileno, dimensionado para volume de 1,3L, diâmetro externo de 13,4 cm e altura de 11,0 cm, e preenchidas com 800 g de solo. A

umidade do solo foi restaurada com a distribuição em superfície de 197 mL de água desionizada, volume que correspondeu a 60% da CRMA. Após a infiltração homogênea da água, a aplicação do fertilizante foi realizada pela deposição uniforme dos grânulos sobre toda a área superficial do solo, na dose de 1884 mg N. As massas de fertilizantes a serem aplicadas foram estabelecidas com a determinação do teor de N de cada tratamento pelo método analítico Kjeldahl, via digestão sulfúrica de amostras em triplicatas (BRASIL, 2014).

A captura da NH_3 volatilizada do solo deu-se em 40 mL de solução acidificada de H_2SO_4 (0,25 M) contida em um frasco plástico aberto (71 mm de diâmetro e 29 mm de altura) instalado no interior da câmara estática. Para monitorar a saturação de NH_3 capturada em solução, foi adicionado duas gotas de indicador vermelho de metila 0,1%. Os frascos plásticos foram posicionados no interior e no centro das câmaras, mantidos a 1 cm acima da superfície do solo por um suporte de hastes plásticas. As trocas dos frascos contendo solução ácida ocorreram aos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 11, 15, 20 e 26 dias após a aplicação do fertilizantes (DAAF), sendo as armadilhas ácidas conservadas em refrigerador a 6°C até a determinação. A NH_3 capturada em solução ácida foi determinada em sistema por injeção em fluxo (FIA) por método condutimétrico (REIS et al., 1997). Na interpretação dos resultados de N- NH_3 volatilizado, as perdas diárias foram subdivididas nos períodos de 0-4, 4-8, 8-15 e 15-26 DAAF. Seguindo a distribuição temporal das perdas diárias, as perdas médias cumulativas de N- NH_3 foram também comparadas em quatro intervalos de tempo, aos 4, 8, 15 e 26 DAAF.

A análise estatística foi baseada em análise de superfície de resposta pelo procedimento RSREG do programa SAS (versão 9.3, SAS Institute Inc., Cary, EUA). Para o ajuste do modelo de regressão múltipla das médias de cada tratamento, foram consideradas como variáveis independentes as proporções de tratamento com B e Cu. Na ausência de interação entre B e Cu, a ocorrência de efeito principal foi analisado por meio de regressão polinomial por modelos linear e quadrático. Todas as variáveis de repostas foram representadas graficamente com o erro padrão da média ($n=20$), por meio do programa SigmaPlot (versão 11.0, Systat Software Inc., San Jose, EUA), também empregado no ajuste de curvas de resposta.

2.3 Resultados e discussão

O presente trabalho foi desenvolvido em condições controladas, desprezando-se as combinações de efeitos edafoclimáticos, como temperatura, umidade e velocidade do ar, volume de chuvas, resíduos vegetais, pH do solo, CTC, umidade do solo e dose de aplicação (WATSON et al., 1994; SANGOI et al., 2003; TRIVELIN et al., 2002; VITTI et al., 2007; TASCA et al., 2011; ROCHETTE et al., 2013), fatores esses que podem ser favoráveis ou não ao processo de volatilização, em condições naturais. Portanto, a quantificação de perdas de NH_3 neste estudo não deve ser extrapolada para condições de campo e, sim, interpretada como evidências que atestam o potencial do H_3BO_3 e CuSO_4 em atenuar as perdas de N, respondendo efetivamente a participação de cada componente para aumentar a eficiência da ureia.

A atividade da urease está diretamente relacionada com umidade do solo (CANTARELLA; 2007, ROCHETTE et al., 2009). Neste estudo, o sistema fechado e a umidade do solo a 60% da CMRA proporcionaram a manutenção da umidade, o que poderia favorecer as taxas de hidrólise maiores do que em condições de campo. Entretanto, as máximas perdas de NH_3 foram atingidas aos 2 DAAF, o que não difere de estudos em condições de campo, que indicaram o máximo de perdas por volatilização ocorrendo, normalmente, no intervalo de 2 a 4 dias após a aplicação da ureia (LARA-CABEZAS; TRIVELIN, 1990; DA ROS; AITA; GIACOMINI, 2005). A explicação pode ser compreendida na reduzida alteração da taxa de hidrólise após os solos atingirem 20% de umidade (BREMNER; MULVANEY, 1978).

Os primeiros picos de perdas por volatilização de NH_3 foram observados entre 3-4 DAAF (Figura 2.1) para ureia não tratada e os tratamentos com apenas Cu das demais combinações. Em geral, a ausência do B no recobrimento antecipou em, no mínimo, três dias os picos de perdas de N-NH_3 , intervalo que foi estendido em mais 5 dias (11 DAAF) com o aumento das doses de B. Os tratamentos com menor dose de B (0,40% B) foram os primeiros fertilizantes com H_3BO_3 a atingir o pico de perdas de N-NH_3 e os que mais se distinguiram em relação às doses de Cu.

Figura 2.1 - Perdas diárias de N-NH_3 pela aplicação em superfície de ureia (U) tratada com ácido bórico e sulfato de cobre no período de 26 dias após fertilização, estimadas em sistema fechado por método qualitativo direto.

Tabela 2.1 - Análise de variância com os valores de P ($\text{Pr} > \text{F}$) da superfície de resposta das perdas diárias de N-NH_3 para cada fator de variação independente, em diferentes intervalos de dias após aplicação superficial da ureia tratada com ácido bórico e sulfato de cobre sob sistema fechado e condições controladas de laboratório.

Aditivo	Perdas diárias de N-NH_3 (% N aplicado)			
	0-4 DAAF	4-8 DAAF	8-15 DAAF	15-26 DAAF
P B	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000
P Cu	0,090	0,601	0,860	0,700
P B x Cu	0,237	0,790	0,403	0,518
CV	40	18	14	16

DAAF: dias após aplicação do fertilizante. CV: coeficiente de variação (%).

Embora tenha ocorrido maior diferenciação para as doses de Cu no revestimento com menor adição de B (0,40% B), não foi observado respostas claras em relação às proporções de Cu, tornando a expressão desse inibidor ainda menor no comportamento das perdas diárias de N-NH₃ nas maiores concentrações de B (Tabela 2.1). As oscilações das taxas diárias não foram afetadas pelas doses de Cu e não houve interação entre doses de B e Cu, descaracterizando qualquer efeito associativo entre os dois inibidores. Stafanato et al. (2013), avaliando o tratamento da ureia pastilhada com os mesmos aditivos, reportaram que doses mais elevadas de Cu não alteraram as perdas cumulativas de NH₃ entre proporções iguais (0,5% Cu + 0,5% B) e superiores em CuSO₄ (2,0% Cu + 0,5% B). Soares (2011) também não constatou efeito sinérgico da mistura de H₃BO₃ e CuSO₄ em doses equivalentes e mais elevadas (1% Cu + 1% B). Segundo o autor, estes aditivos poderiam atuar em tempos diferentes pela diversificação do modo de ação de ambos. Frente a esses resultados, a relação Cu/B provavelmente não aparenta ser um aspecto preponderante para a avaliação do efeito associativo entre esses aditivos.

O tratamento isolado com CuSO₄ não reduziu as perdas de NH₃ por volatilização. O efeito foi observado aos 2 DAAF pela antecipação do pico de perda de NH₃ da ureia tratada com menor dose de Cu (U + 0,05% Cu) e o aumento nas perdas diárias do tratamento com dose intermediária (U + 0,10% Cu) em comparação ao fertilizante não tratado (U). Esses resultados corroboram novamente com os de Soares (2011), que também não observou redução na volatilização de NH₃ pela adição de CuSO₄ a ureia, tanto na forma incorporada quanto revestida, em doses crescentes de Cu muito superiores ao experimentado neste presente estudo (0,15; 0,30; 0,60 e 1,00% Cu). Reiterando o efeito deletério do Cu obtido neste estudo, Soares (2011) relatou, ainda, que a adição do metal afetou negativamente o desempenho do inibidor N-(*n*-butil) triamida tiofosfórica (NBPT), ocasionando aumento de 7% nas perdas acumulativas de N-NH₃ aos 15 DAAF. Quanto ao efeito do íon acompanhante, Stafanato et al. (2013), ao explorar o uso de CaSO₄ no revestimento da ureia, evidenciaram que o sulfato presente na matéria-prima não demonstrou, aparentemente, ser um fator de influência sobre as perdas de volatilização de NH₃.

As ureias recobertas com H₃BO₃ apresentaram redução na intensidade das taxas e nas perdas cumulativas de N-NH₃, ocorrendo maior distinção entre doses aos 8 DAAF. O atraso do processo de hidrólise pelo H₃BO₃ foi gradualmente reduzido ao longo do tempo, ocorrendo em dias subsequentes a intensificação de perdas de N-NH₃ (8-11 DAF).

A inibição da urease pelo H₃BO₃ é ser explicada pela substituição do ácido no lugar de moléculas de água ligadas aos átomos de Ni da urease, promovendo a formação de um

complexo no centro da reação da enzima, devido à semelhança geométrica do H_3BO_3 com a ureia (BENINI et al., 2004). Contrariamente à teoria de tamponamento da acidez pelo aditivo, os autores relataram que a máxima inibição do H_3BO_3 na área de solubilização da ureia ocorreu em pH de 6,2 a 9,3, confirmando a eficiência de inibição pela conservação estrutural trigonal neutra (H_3BO_3^0) da molécula, no lugar da forma aniônica (H_4BO_4^-).

A diferença de competitividade de inibição da enzima urease entre o H_3BO_3 e o Cu pode ser explicada pela diferença no modo de ação e na reação desses aditivos ao solo. A inibição do H_3BO_3 é por ação competitiva e, portanto, depende da preservação do arranjo tridimensional análogo à ureia para concorrer diretamente pelo sítio de ligação na enzima (BENINI et al., 2004). Por ter um baixo grau de ionização ($\text{pK}_a = 9,24$) e ser uma molécula não ionizada, a manutenção estrutural do inibidor não se torna um problema de maior relevância para a maioria dos solos agrícolas. Contrariamente ao H_3BO_3 , a inibição do Cu é por ação não competitiva e requer que o elemento se preserve na sua forma iônica para ligação com os grupos sulfidrilas da enzima urease (SHAW, 1954; ZABORSKA; KRAJEWSKA; OLECH, 2004). Mesmo com solubilidade muito superior ao H_3BO_3 , a baixa ação de inibição do Cu no solo pode estar associada à forte interação do íon com cargas do solo e, conseqüentemente, a baixa disponibilidade do inibidor em solução. O Cu é o micronutriente de menor mobilidade no solo graças a grande adsorção em colóides inorgânicos e orgânicos, induzido especialmente pela formação de complexos altamente estáveis com grupos carboxílicos e fenólicos de compostos orgânicos (ABREU et al., 2007). Com o Cu^{2+} adsorvido/complexado ao solo, a ureia pode ainda se movimentar livremente por difusão ou junto com o movimento da água no solo, levando-a para fora da zona de ação do metal (GEISSLER; SOR; ROSENBLATT, 1970).

A redução de eficiência de inibição pela imobilização do íon Cu^{+2} por colóides inorgânicos também foi relatada por Rech, Polidoro e Pavinato (2017) por meio da associação do CuSO_4 com zeolita. Os autores reportaram que devido a afinidade do Cu^{+2} pelas cargas negativas da zeolita, parte do Cu foi retido nas cargas negativas do mineral, tornando o metal indisponível para inibição da urease. A fim de contornar a imobilização do Cu pelo solo, Geissler, Sor e Rosenblatt. (1970), detentores da patente que idealizou a associação B+Cu, propuseram utilizar fontes quelatilizadas de Cu para conferir carga neutra ao elemento e, assim, aumentar a eficiência de inibição da urease pelo metal no solo. No mesmo ano, estudos de Bhavanandan e Fernando (1970), citado por Kiss e Simihaian (2002), demonstraram que uma fonte menos solúvel de cobre (Cu_2O) provocou inibição da urease maior que o CuSO_4 em doses equivalentes.

Em experimento de incubação de 148 dias, Pugh e Waid (1969) também verificaram a baixa eficiência do Cu e a variação do desempenho de inibição do metal, o que foi atribuído às características intrínsecas do solo. Ainda que os autores tenham observado atraso nas taxas de N-NH₃ e respostas distintas pelo tipo de solo, o CuSO₄ não foi capaz de reduzir as perdas cumulativas de NH₃, ocasionando reduções que variaram de 2,6 a 8,4% na avaliação de vários períodos, em comparação à ureia não tratada.

A mobilidade e disponibilidade dos aditivos no solo é um fator importante para garantia da eficiência de inibição enzimática. Nesse sentido, estudos concluíram que compostos inibidores com características de difusividade e solubilidade similares às da ureia apresentam melhores resultados (RADEL et al., 1988; WATSON, 2000). Isto, porque em condições elevadas de umidade, a camada superficial do revestimento é rapidamente desintegrada, tornando as moléculas da ureia mais suscetíveis à ação da urease (RECH; POLIDORO; PAVINATO, 2017).

A compatibilidade entre os componentes do revestimento é outro aspecto que pode desfavorecer a atuação dos inibidores de urease. Como exemplo, alguns estudos reportaram maior volatilização de NH₃ pela associação entre NBPT e dicianodiamida (DCD), conhecido inibidor de nitrificação (NASTRI et al., 2000; ASING et al., 2008; SOARES; CANTARELLA, MENEGALE, 2012). No presente estudo, ainda que tenha ocorrido aumento na volatilização pelo tratamento isolado com CuSO₄, não foi observado efeito antagônico do Cu na associação B+Cu.

Além de fatores ambientais como temperatura, umidade e velocidade de ar incidente, as perdas de NH₃ são dependentes ainda de características do solo, como textura, pH e poder tampão (CANTARELLA, 2007). Em geral, solos com maior teor de matéria orgânica e mais argilosos apresentam menores perdas de NH₃ pelo maior poder tampão de acidez do solo e a maior capacidade de retenção do NH₄⁺ produzido durante a hidrólise da ureia (WATSON et al., 1994).

A atenuação de perdas diárias pela presença de H₃BO₃ no revestimento da ureia refletiu positivamente nas perdas cumulativas de N-NH₃ (Figura 2.2), independente do intervalo de tempo (Tabela 2.2), confirmando a ausência de efeito das doses de Cu e de interação entre inibidores.

Figura 2.2 - Perdas cumulativas de N-NH_3 pela aplicação em superfície de ureia (U) tratada com ácido bórico e sulfato de cobre no período de 26 dias após fertilização, estimadas em sistema fechado por método qualitativo direto.

Tabela 2.2 - Análise de variância com os valores de P ($\text{Pr} > \text{F}$) da superfície de resposta das perdas cumulativas de N-NH_3 para cada fator de variação independente, em diferentes intervalos de dias após aplicação superficial da ureia tratada com ácido bórico e sulfato de cobre sob sistema fechado e condições controladas de laboratório.

Aditivo	Perdas acumuladas de N-NH_3 (% N aplicado)			
	4 DAAF	8 DAAF	15 DAAF	26 DAAF
P_B	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000
P_{Cu}	0,088	0,599	0,923	0,925
$P_{B \times Cu}$	0,236	0,373	0,910	0,851
CV	40	16	10	10

DAAF: dias após aplicação do fertilizante. CV: coeficiente de variação (%).

O aumento da acidificação do meio com materiais naturalmente acidificantes também pode ser uma estratégia para minimizar as perdas de NH_3 (CANTARELLA, 2007). Com base nisso, Nascimento et al. (2013) afirmaram que o revestimento com H_3BO_3 poderia auxiliar no tamponamento do pH ao redor dos grânulos, pois a sua estrutura ácida geraria prótons pela dissociação, os quais poderiam atender a demanda de íons H^+ para permanência do N na sua forma mais reduzida (NH_4^+). Entretanto, por meio de cálculos estequiométricos (HERINGER, 2008) e da constante de dissociação ácida do H_3BO_3 de 9,2 (SOARES, ALLEONI, CASAGRANDE, 2005), o poder de tamponamento das pequenas concentrações do referido ácido não seria suficiente para neutralizar a NH_3 emitida por volatilização e, portanto, a alteração do pH pelo inibidor em torno dos grânulos da ureia não justifica a redução das perdas de N- NH_3 (CANCELLIER et al. 2016).

O aumento de H_3BO_3 no tratamento da U reduziu as perdas por volatilização de NH_3 , para todos os intervalos avaliados, apresentando resposta quadrática ao aumento das doses de B no revestimento (Figura 2.3). Esses resultados divergem dos obtidos por Soares (2011), ao avaliar o recobrimento de H_3BO_3 em doses de 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 % B. Este mesmo autor relatou que, embora a adição de H_3BO_3 tenha reduzido e atrasado em um dia o pico de perdas de NH_3 , ao final de 15 dias, não houve diferença entre as doses de H_3BO_3 e a associação da máxima dose (1,0% B) com NBPT não resultou em efeito aditivo por ação conjunta. Mesmo com ambos conduzidos em sistema fechado, o contraste de respostas deste estudo com os de Soares (2011) pode possivelmente ser explicados pela diferença de textura e da capacidade de troca de cátions (CTC) dos solos, fatores que influenciam no poder tampão do solo, e alteram a quantidade de sítios de troca para retenção do NH_4^+ e, por consequência, a disponibilização de NH_3 em solução (CANTARELLA, 2007; ROCHETTE et al., 2013).

Aos 4 DAAF (Figura 2.3 A), os tratamentos sem B apresentaram perdas cumulativas de 6,9% do N aplicado, equivalente a 27% da perda de N- NH_3 total durante todo o experimento e 25 vezes maior em relação a média dos tratamentos com B, os quais reduziram aproximadamente em 6,7% as perdas totais de N- NH_3 nesse período. Diante disso, conclui-se que as doses de B demonstraram ser eficientes em mitigar, inicialmente, as perdas de N- NH_3 , especialmente no período mais crítico (2-4 DAAF), apresentando em ordem decrescente perdas cumulativas de N- NH_3 de 0,50%, 0,27%, 0,17% e 0,15%, respectivamente, para doses de B de 0,40%, 0,52%, 0,64% e 0,76%.

Figura 2.3 - Perdas cumulativas de N-NH_3 aos 4, 8, 15 e 26 dias após aplicação do fertilizante (DAAF), em função das doses de B a partir do tratamento da ureia tratada com ácido bórico. X_v : coordenada x do ponto mínimo.

No segundo intervalo (8 DAAF), com a intensificação do processo de hidrólise, as doses de B apresentaram desempenhos de inibição mais distintos entre si. Em relação aos tratamentos sem B, o incremento de H_3BO_3 no revestimento da ureia diminuiu as perdas de N-NH_3 , ocasionando as seguintes reduções: 9% (0,40% B); 11% (0,52% B); 12% (0,64% B) e 13% (0,76% B). Explorando o potencial de ação do inibidor, o aumento de H_3BO_3 para dose de máxima eficiência (0,89% B) (Figura 2.3B) promoveria perda cumulativa de N-NH_3 estimada em 2,9% do N aplicado, aumentando em torno de 40% a ação de inibição em relação a menor dose (0,40% B).

Aos 15 DAAF (Figura 2.3 C), a ausência de H_3BO_3 resultou em perdas cumulativas de 21% do N aplicado, aproximadamente 10% superior a maior dose de B. Ainda que seja possível constatar a resposta do aumento de B, as doses de B tendem a se equiparar pelo efeito temporário de inibição e, portanto, as diferenças entre tratamentos tornaram-se menores. Com desempenho muito similar, este foi o período em que as maiores doses de B

(0,64 e 0,76%) apresentaram a maior diferença entre si, sendo o maior incremento de H_3BO_3 superior a 10% em desempenho de inibição. Aos 15 DAAF, a redução nas perdas cumulativas de NH_3 pelo tratamento com H_3BO_3 são descritas em ordem crescente de doses de B em 7,28; 8,00; 8,71 e 9,86%, em comparação aos fertilizantes não tratados (0% B). Com a equivalência entre as menores doses de B (0,40 e 0,52%) e estreitamento das reduções após a ação temporária de inibição, a dose de máxima eficiência estimada foi de 0,87% B.

Ao final do experimento (26 DAAF) (Figura 2.3 D), a ausência de H_3BO_3 promoveu perda cumulativa de N- NH_3 de 25% do N aplicado. O efeito temporário de inibição do H_3BO_3 demonstrou-se mais evidenciado, sendo as diferenciações entre as doses de 0,40, 0,52 e 0,64% B menos perspectíveis. Com perdas de N- NH_3 variando de 18,2 a 16,9% do N aplicado, o tratamento com H_3BO_3 reduziu, em média, 7% as perdas cumulativas de N- NH_3 . Com base no comportamento de resposta das doses de B ao longo do experimento e nas análises de regressão para os diferentes períodos, a dose estimada de maior eficiência foi determinada em 0,88% B, média dos períodos mais representativos ao efeito de doses (8 e 15 DAAF) (Figuras 2.3 C e D).

2.4 Conclusões

O tratamento de grânulos de U com CuSO_4 não é uma estratégia capaz de minimizar, por efeito isolado ou associativo, as perdas por volatilização de NH_3 .

O aumento do H_3BO_3 no tratamento da U granulada atrasa e reduz as perdas de NH_3 por volatilização em relação à ureia não tratada, respondendo de modo quadrático às doses de B. Com base na análise de regressões de períodos mais representativos (8 e 15 DAAF), a dose estimada de máxima eficiência para redução das perdas cumulativas de N- NH_3 é de 0,88% B.

Referências

ABREU, C.A.; LOPES, A.S.; SANTOS, G. Micronutrientes. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B; NEVES, J.C.L. (Ed.). **Fertilidade do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2007. p. 645-736.

- ASING, J.; SAGGAR, S., SINGH, J., BOLAN, N.S. Assessment of nitrogen losses from urea and an organic manure with and without nitrification inhibitor, dicyandiamide, applied to lettuce under glasshouse conditions. **Australian Journal Soil Research**, v. 46, p. 535-541, 2008.
- BENINI, S.; RYPNIEWSKI, W.R.; WILSON, K.S.; MANGANI, S.; CIURLI, S. Molecular details of urease inhibition by boric acid: insights into the catalytic mechanism. **Journal of American Chemistry Society**, v. 126, n. 2, p. 3714-3715, 2004.
- BHAVANANDAN, V.P.; FERNANDO, V. Studies on the use of urea as a fertilizer for tea in Ceylon. II - Urease activity in tea soils. **Tea Quarterly** **41**, 1970. p. 94-106.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes minerais, orgânicos, organominerais e corretivos**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/DAS/CGAL, 2014. 220 p.
- BREMNER, J.M. Recent research on problems in the use of urea as a nitrogen fertilizer. **Fertilizer Research**, v. 42, p. 321-329, 1995.
- BREMNER, J.M.; MCCARTY, G.W.; HIGUCHI, T. Persistence of the inhibitory effects of phosphoroamides on urea hydrolysis in soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 22, n. 15-16, p. 1519-1526, 1991.
- BREMNER, J.M.; MULVANEY, R.L. Urease activity in soils. In R.G. Burns (Ed.) **Soil Enzymes**. New York: Academic Press. 1978. p. 149-196.
- CANCELLIER, E.L.; SILVA, D.R.G.; FAQUIN, V.; GONÇALVES, B. de A.; CANCELLIER, L.L.; SPEHAR, C.R. Ammonia volatilization from enhanced-efficiency urea on no-till maize in brazilian cerrado with improved soil fertility. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, n. 2, p. 133-144, 2016.
- CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B; NEVES, J.C.L. (Ed.). **Fertilidade do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2007. p. 375-470.

- 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**, v. 102, p. 267-322, 2009.
- CONLEY, D.J.; PAERL, H.W.; HOWARTH, R.W.; BOESCH, D.F.; SEITZINGE, S.P.; KARL, E.; KARL, E.; LANCELOT, C.; GENE, E.; GENE, E. Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus. **Science**, n. 323, p. 1014–1015, 2009.
- DA ROS, C.O.; AITA, C.; GIACOMINI, S.J.; Volatilização de amônia com a aplicação de uréia na superfície do solo, no sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 799-805, 2005.
- DOMINGHETTI, A.W.; GUELFÍ, D.R.; GUIMARÃES, R.J.; CAPUTO, A.L.C.; SPEHAR, C.R.; FAQUIN, V. Nitrogen loss by volatilization of nitrogen fertilizers applied to coffee orchard. **Ciência Agrotecnologia**, v. 40, n. 2, p. 173-183, 2016.
- EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3 ed. Brasília: Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa de solos, 2013. 353p.
- GEE, G.W.; BAUDER, J.M. Particle-size analysis. In: KLUTE, A. (Ed.) **Methods of soil analysis**. 2nd ed. Part 1: Physical and mineralogical methods (Agronomy Series, 9). Madison: ASA; SSSA, 1986. p. 383-411.
- GEISSLER, P.R.; SOR, K.; LINDEN; ROSENBLATT, T.M. **United States Patent, nº 3.523.018**, 1970.
- HEFFER, P.; M. PRUD'HOMME. **Fertilizer outlook 2015-2019**. Paris: IFA, 2015. 83th IFA Annual Conference Istanbul (Turkey). International Fertilizer Association. Disponível em: <http://www.fertilizer.org/en/images/Library_Downloads/2015_ifa_istanbul_summary.pdf>. Acesso em: 06 de julho de 2017.
- HERINGER, D. Icamp Marcas e Patentes Ltda. Produto fertilizante a base de ureia e processo para fabricação do produto. **PI 0700921-6 A**. 2008. 10p.

IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. N₂O emissions from managed soils, and CO₂ emissions from lime and urea application. In: EGGLESTON, H.S.; BUENDIA, L.; MIWA, K.; NGARA, T.; TANABE, K. (Ed.) **Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories**. Institute for Global Environmental Strategies. Geneva: IGES, 2006. v. 4, cap. 11, 54p.

KISS, S.; SIMIHAIAN, M. **Improving efficiency of urea fertilizers by inhibition of soil urease activity**. Dordrecht: Klumer Academic Publishers. 2002. 417p.

KRAJEWSKA, B.; ZABORSKA, W.; CHUDY, M. Multi-step analysis of Hg²⁺ ion inhibition of jack bean urease. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 98, n. 6, p. 1160-1168, 2004.

LARA-CABEZAS, W.A.R.; TRIVELIN, P.C.O.; KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, S. Balanço da adubação nitrogenada sólida e fluida de cobertura na cultura do milho em sistema plantio direto no Triângulo Mineiro (MG). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 2, p. 363-376, 2000.

LARA-CABEZAS, W.A.R.; TRIVELIN, P.C.O. Eficiência de um coletor semi-aberto estático na quantificação de N-NH₃ volatilizado da uréia aplicada ao solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.14, n.3, p.345-352, 1990.

NASCIMENTO, C.A.C. do; VITTI, G.C.; FARIA, L. de A.; LUZ, P.H.C.; MENDES, F.L. Ammonia volatilization from coated urea forms. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p. 1057-1063, 2013.

NASTRI, A.; TODERI, G.; BERNATI, E.; GOVI, G. Ammonia volatilization and yield response from urea applied to wheat with urease (NBPT) and nitrification (DCD) inhibitors. **Agrochimica**, v. 44, n. 5, p. 231-239, 2000.

OVERREIN, L.N.; MOE, P.G. Factors affecting urea hydrolysis and ammonia volatilization in soil. **Soil Science Society of America Proceedings**, v. 31, p. 57-61, 1967.

- PAN, B.; LAM, S.K.; MOSIER, A.; LUO, Y.; CHEN, D. Ammonia volatilization from synthetic fertilizers and its mitigation strategies: a global synthesis. **Agricultura, Ecosystems & Environment**, v. 232, p. 283-289, 2016.
- PAULOT, F; JACOB, D.J.; PINDER, R.W.; BASH, J.O.; TRAVIS, K.; HENZE, D.K. Ammonia emissions in the United States, European Union, and China derived by high-resolution inversion of ammonium wet deposition data: Interpretation with a new agricultural emissions inventory (MASAGE_NH3). **Journal of Geophysical Research: Atmospheres**, v. 119, p. 4343-4364, 2014.
- PUGH, K.B.; WAID, J.S. The influence of hydroxamates on ammonia loss from various soils treated with urea. **Soil Biology Biochemistry**, v. 1, p. 207-217, 1969.
- RADEL, R.J.; GAUTNEY, J.; PETERS, G.E. Urease inhibitor developments. In: BOCK, B.R.; KISSEL, D.E. (Ed.) **Ammonia volatilization from urea fertilizers**. Muscle Shoals, National Fertilizer Development Center. 1988. p. 111-136.
- RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C. de; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: IAC, 2001. 285p.
- RECH, I.; POLIDORO, J. C.; PAVINATO, P. S. Additives incorporated into urea to reduce nitrogen losses after application to the soil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 52, n. 3, p. 194-204, 2017.
- 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**, v. 8, n. 5., p. 523-528, 1997.
- ROCHETTE, P.; ANGERS, D.A.; CHANTIGNY, M.H.; GASSER, M.-O.; MACDONALD, J.D.; PELSTER, D.E.; BERTRAND, N. NH₃ volatilization, soil NH₄⁺ concentration and soil pH following subsurface banding of urea at increasing rates. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 93, n. 2, p. 261-268, 2013.

- ROCHETTE, P.; MACDONALD, J.D.; ANGERS, D.; CHANTINI, M.H.; GASSER, M.; BERTRAND, N. Banding urea increased ammonia volatilization in a dry acidic soil. **Journal Environmental Quality**, v. 38, n. 4, p. 1383-1390, 2009.
- SANGOI, L.; ERNANI, P.R.; LECH, V.A.; RAMPAZZO, C. Volatilização de N-NH₃ em decorrência da forma de aplicação de ureia, manejo de resíduos e tipo de solo, em laboratório. **Ciência Rural**, v. 33, n. 4, p. 687-692, 2003.
- SHAW, W.H.R. The inhibition of urease by various metal Ions. **Journal of America Chemical Society**, v. 76, p. 2160-2163, 1954.
- SOARES, J. R. **Efeito de inibidores de urease e de nitrificação na volatilização de NH₃ pela aplicação superficial de ureia no solo**. 2011. 79p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 2011.
- SOARES, J.R.; CANTARELLA, H.; MENEGALE, M.L.C. Ammonia volatilisation losses from surface-applied urea with urease and nitrification inhibitors. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 52, p. 82-89, 2012.
- SOARES, M.R.; ALLEONI, L.R.F.; CASAGRANDE, J.C. Parâmetros termodinâmicos da reação de adsorção de boro em solos tropicais altamente intemperizados. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1014-1022, 2005.
- SOIL SURVEY STAFF. **Keys to soil taxonomy**. 12th ed. United States Department of Agriculture and Natural Resources Conservation Service, Washington, DC. Disponível em: https://www.nrcs.usda.gov/wps/PA_NRCSCconsumption/download?cid...ext=pdf Acesso em: 07 de agosto de 2017.
- SOMMER, S.G.; SCHJOERRING, J.K.; DENMEAD, O.T. Ammonia emission from mineral fertilizers and fertilized crops. **Advances in Agronomy**, v. 82, p. 557-622, 2004.

- STAFANATO, J.B.; GOULART, R. de S.; ZONTA, E.; LIMA, E.; MAZUR, N.; PEREIRA, C.G.; SOUZA, H.N. de. Volatilização de amônia oriunda de ureia pastilhada com micronutrientes em ambiente controlado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, n. 3, p. 726-732, 2013.
- SUTTON, M.A.; ERISMAN, J.W.; DENTENER, F.; MÖLLER, D. Ammonia in the environment: from ancient times to the present. **Environmental Pollution**, v. 156, p. 583-604, 2008.
- TABATABAI, M.A. Effects of trace elements on urease activity. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 9, p. 9-13, 1977.
- TASCA, F.A.; ERNANI, P.R.; ROGERI, D.A.; GATIBONI, L.C.; CASSOL, P.C. Volatilização de amônia do solo após a aplicação de ureia convencional ou com inibidor de urease. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 493-502, 2011.
- TOMASZEWSKA, M.; JAROSIEWICZ, A.; KARAKULSKI, K. Physical and chemical characteristics of polymer coating in CRF formulation. **Desalination**, v. 146, p. 19-323, 2002.
- TRENKEL, M.E. **Slow and controlled-release and stabilized fertilizers**: An option for enhancing nutrient use efficiency in agriculture. Paris, International Fertilizer Industry Association, 2010. 167p.
- TRIVELIN, P.C.O.; OLIVEIRA, M.W.; VITTI, A.C.; GAVA, G.J.C.; BENDASSOLLI, J.A. Perdas do nitrogênio da ureia no sistema solo-planta em dois ciclos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 2, p. 193-201, 2002.
- TYLER, G. Heavy metal pollution and soil enzymatic activity. **Plant and Soil**, v. 41, p. 303-311, 1974.

- VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; FRANCO, H.C.J.; BOLOGNA, I.R.; FARONI, C.E. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada à localização de adubos nitrogenados aplicados sobre os resíduos culturais em canavial sem queima. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 31, n. 3, p. 491-498, 2007.
- WANG, S.; NAN, J.; SHI, C.; FU, Q.; GAO, S.; WANG, D.; CUI, H, SAIZ-LOPEZ, A., ZHOU, B. Atmospheric Ammonia and its Impacts on Regional Air Quality Over The Megacity of Shanghai, China. **Scientific Reports**, 5:15852, 2015.
- WATSON, C.J. Urease activity and inhibition - Principles and practice. In: The International Fertilizer Society Meeting, London, 2000. **The International Fertilizer Society Proceedings**, n. 454, 2000. 39p.
- WATSON, C.J.; MILLER, H.; POLAND, P.; KILPATRICK, D.J.; ALLEN, M.B.D.; GARRET, M.K.; CHRISTIANSON, C.B. Soil properties and the ability of the urease inhibitor N-(*n*-butyl) thiophosphoric triamide (nBTPT) to reduce ammonia volatilization from surface-applied urea. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 26, p. 1165-1171, 1994.
- YANG, Y. Controlled release urea improved nitrogen use efficiency, activities of leaf enzymes, and rice yield. **Soil Science Society American Journal**, v. 76, n. 6, p. 2307-2317, 2012.
- ZABORSKA, W; KRAJEWSKA, B; OLECH, Z. Heavy metal ions inhibition of jack bean urease: Potential for rapid contaminant probing. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 65-69, 2004.
- ZAMAN, M.; BLENNERHASSET, J.D. Effect of the different rates of urease and nitrification inhibitors on gaseous emissions of ammonia and nitrous oxide, nitrate leaching and pasture production from urine patches in an intensive grazed pasture system. **Agriculture Ecosystems and Environment**, v. 136, p. 236-246, 2010.

ZAMAN, M.; SAGGAR, S.; BLENNERHASSETT, J.D.; SINGH, J. Effect of urease and nitrification inhibitors on N transformation, gaseous emissions of ammonia and nitrous oxide, pasture yield and N uptake in grazed pasture system. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 1270-1280, 2009.

3 APROVEITAMENTO DE NITROGÊNIO (^{15}N) E BORO DA UREIA TRATADA COM ÁCIDO BÓRICO E SULFATO DE COBRE PELO MILHO

Resumo

A ureia é o fertilizante nitrogenado mais empregado na cultura do milho (*Zea mays* L.) e, quando aplicada sobre o solo, está altamente propensa a perdas por volatilização de amônia (NH_3). Dentre as estratégias que visam contornar esse processo e aumentar a eficiência de uso de N, o uso de inibidores de urease é uma das tecnologias mais promissoras e menos onerosas. Com dupla aptidão, os inibidores de urease inorgânicos constituídos por elementos essenciais às plantas, como ácido bórico (H_3BO_3) e sulfato de cobre (CuSO_4), podem ser explorados ainda para incremento nutricional. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de uso de N e boro (B) em dois estádios vegetativos do milho (V8 e VT) a partir da aplicação em superfície de grânulos de ^{15}N -ureia recobertos com H_3BO_3 e CuSO_4 , em experimento de vaso. Os tratamentos foram constituídos pela aplicação superficial dos seguintes fertilizantes nitrogenados (N-fertilizantes): (a) Ureia não tratada (U); (b) Ureia recoberta com ácido bórico a 0,40% B (U+0,40% B); (c) Ureia recoberta com ácido bórico a 0,52% B (U+0,52% B); (d) Ureia recoberta com ácido bórico a 0,64% B (U+0,64% B); (e) Ureia recoberta com ácido bórico a 0,88% B (U+0,88% B); (f) Ureia recoberta com ácido bórico e sulfato de cobre, com 0,40% B e 0,15% Cu, respectivamente (U+CuB); (g) Ureia recoberta com N-(*n*-butil) triamida tiofosfórica (U+NBPT). Os inibidores de urease atrasaram e reduziram as perdas de NH_3 por volatilização. Os tratamentos com H_3BO_3 promoveram reduções na volatilização de NH_3 que variaram de 6 a 17% em relação à U não tratada. Os tratamentos com maiores doses de B não diferiram do tratamento com N-(*n*-butil) tiofosfórico triamida (NBPT) em produção de biomassa de milho. A altura de plantas, diâmetro de colmo e índice de área foliar não apresentaram diferenças entre N-fertilizantes. A aplicação dos inibidores de urease modificaram a morfologia de raízes apenas no estágio V8. O aumento de H_3BO_3 no tratamento da U aumentou em média de 10% a eficiência de uso do N-fertilizante (EUN-F), em relação à ureia não tratada. Em VT, não houve diferença de EUN-F entre os tratamentos NBPT e a maior dose de H_3BO_3 (0,88% B). O tratamento da U com doses crescentes de H_3BO_3 aumentou progressivamente o acúmulo de B na planta. A adição de CuSO_4 não afetou a volatilização de NH_3 e tampouco a EUN-F. O tratamento da U com H_3BO_3 reduziu as perdas de N, aumentou a EUN-F e forneceu o B às plantas.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; Inibidores de urease; Volatilização de amônia; Fertilizantes de eficiência aumentada; Fertilizantes estabilizados; NBPT

Abstract

Urea is the most nitrogen fertilizer commonly used in maize (*Zea mays* L.) and when it is applied to the soil it is highly prone to ammonia (NH_3) volatilization losses. Among the strategies that aim to circumvent this process and increase the nitrogen use efficiency (NUE), the use of urease inhibitors is one of the most promising and least expensive technologies. With dual ability, inorganic urease inhibitors composed with essential elements for plants, such as boric acid (H_3BO_3) and copper sulfate (CuSO_4), can be exploited for nutritional enhancement. In this context, the objective of this study was to evaluate the efficiency of the

use of N and boron (B) in two maize vegetative stages (V8 and VT) from the surface application of ^{15}N -urea treated with H_3BO_3 and CuSO_4 , under pot experiment. The treatments consisted by the superficial application of the following nitrogen fertilizers (N fertilizers): (a) Untreated urea (U); (b) Urea treated with 0.40% boric acid B (U+0.40% B); (c) Urea treated with 0.52% B boric acid (U+0.52% B); (d) Urea treated with 0.64% B boric acid (U+0.64% B); (e) Urea treated with 0.88% boric acid B (U+0.88% B); (f) Urea treated with boric acid and copper sulfate, with 0.40% B and 0.15% Cu, respectively (U + CuB); (g) Urea treated with thiophosphoric N-(*n-butyl*) triamide (U + NBPT). Urease inhibitors delayed and reduced NH_3 losses by volatilization. Treatments with H_3BO_3 promoted reductions in NH_3 volatilization ranging from 17 to 6% relative to untreated U. The treatments with higher rates of B did not differ from the treatment with N-(*n-butyl*) thiophosphoric triamide (NBPT) in maize biomass production. The height of plants, stem diameter and leaf area index did not show differences between N fertilizers. The application of urease inhibitors modified the root morphology only in stage V8. The increase of H_3BO_3 in the urea coating increased on average 10% the efficiency of use of N fertilizer (NUE-F) in relation to untreated urea. In VT growth stage, there was no difference for NUE-F between treatments NBPT and higher rate of H_3BO_3 (0.88% B). Treatment of U with increased rates of H_3BO_3 progressively increased the accumulation of B in the plant. The addition of CuSO_4 did not affect volatilization of NH_3 and NUE-F. Urea coating with H_3BO_3 reduced N losses, increased NUE-F and supplied B to plants.

Keywords: *Zea mays* L.; Urease inhibitors; NH_3 volatilization; Enhanced efficiency fertilizers; Stabilized fertilizers; NBPT

3.1 Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é atualmente a segunda cultura de maior importância no Brasil, sendo representada pela produção de 98 milhões de Mg do grão em 18 milhões de ha (CONAB, 2017). A produção de grãos está diretamente relacionada com o suprimento do nutriente mais requerido pela cultura, o nitrogênio (N), componente essencial para síntese de proteínas, ácidos nucleicos, coenzimas, fitohormônios, clorofila e inúmeros metabólitos secundários (MARSCHNER, 2012). A produção agrícola desse cereal tem participação de destaque no consumo de fertilizantes nitrogenados sintéticos no país, especialmente pelo uso da fonte de N mais empregada no mundo, a ureia (ANDA, 2014).

A ureia é o fertilizante nitrogenado mais usado na agricultura mundial (PRUD'HOMME; HEFFER, 2017), representando a principal fonte de N para as culturas, pelas vantagens que apresenta em relação às demais fontes nitrogenadas, como a maior concentração de nutriente (45 a 46% N) e o baixo custo por unidade de N no fertilizante. No entanto, ainda que vantajosa economicamente, esse fertilizante amídico promove significativos impactos agrônômicos e ambientais nos agroecossistemas, ocasionados pela alta

probabilidade de perdas gasosas de NH_3 e CO_2 após aplicação em superfície (BEHERA et al., 2013; PAN et al., 2016).

A incorporação da ureia ao solo é o método mais eficiente para redução das perdas de N por volatilização de NH_3 , pois aumentam as chances de protonação e, posteriormente, a adsorção do NH_4^+ às cargas negativas do solo, reduzindo as perdas de N na forma gasosa (TRIVELIN et al., 2002; ROCHETTE et al., 2013a; ROCHETTE et al., 2013b). Entretanto, essa prática está restrita a adubação de plantio, já que em estádios mais avançados da cultura, além do maior custo operacional, a incorporação pode causar danos ao sistema radicular das plantas (RODRIGUES; KIEHL, 1986).

Recentemente, uma estratégia para reduzir o potencial de poluição ambiental e aumentar a eficiência de uso da ureia pelas plantas, é o uso de fertilizantes tecnologicamente aperfeiçoados, denominados de “fertilizantes de eficiência aumentada” (FEA), os quais são recobertos ou encapsulados por substâncias que inibem alguma etapa de transformação do N ou promovem a liberação gradual deste no solo (TRENKEL, 2010; TIMILSENA et al., 2014). Dentre os FEA, os fertilizantes tratados com aditivos que promovem a redução de perdas de NH_3 , denominados como “estabilizados”, são geralmente produzidos de modo mais simples e, portanto, tornam-se economicamente mais acessíveis do que fertilizantes de liberação lenta ou controlada (GUELF, 2017). A “estabilização” do N da ureia é temporária e tem como vantagem principal retardar o período de máxima volatilização, visando: garantir maior tempo para incorporação ao solo do N-fertilizante por chuva ou irrigação; reduzir a intensificação de hidrólise da ureia na superfície do solo, mitigando as perdas de N por volatilização; aumentar a eficiência de uso do fertilizante e incrementar a produtividade e qualidade das culturas (WATSON et al., 2008). Desse modo, os componentes adicionados à ureia, designados de inibidores da urease, são responsáveis por diminuir a taxa de conversão do N-amídico (N-NH_2) para a forma amoniacal (NH_4^+) por meio da redução da atividade da urease no solo (KISS; SIMIHAIAN, 2002; TRENKEL, 2010).

Entre os vários inibidores de urease já estudados, o tiofosfato de N-(*n*-butil) triamida (NBPT) é atualmente o aditivo mais utilizado no mundo (KRAJEWSKA, 2009; TRENKEL, 2010). O alto desempenho desse inibidor é assegurado especialmente pela semelhanças de solubilidade e difusividade com a ureia, características que favorecem a inibição do processo de hidrólise pela enzima urease (CANTARELLA, 2007). Entretanto, a estabilidade do NBPT pode ser alterada pelo tempo de armazenamento pós-tratamento e condições ambientais desfavoráveis (WATSON et al., 2008). Segundo Suter et al. (2011), em condições tropicais, a elevada temperatura e umidade podem promover a rápida degradação deste componente,

diminuindo a eficiência de mitigação das perdas de NH_3 por volatilização. Como alternativa, inibidores inorgânicos, como ácido bórico (H_3BO_3) e cobre (Cu^{+2}), têm sido explorados pela sua aptidão nutricional e menor impacto ao ambiente.

O ácido bórico (H_3BO_3) é um dos inibidores inorgânicos de destaque da atualidade. A eficiência de inibição pelo H_3BO_3 foi descrita por estudos moleculares de Benini et al. (2004), que atribuiu a ação inibição do H_3BO_3 às similaridades de arranjo estrutural do ácido bórico com a ureia. A ação do H_3BO_3 se dá pelo posicionamento simétrico da molécula no centro de reação da urease, entre os dois átomos de Ni da enzima, sítio ativo concorrido pelo inibidor e a ureia.

Com inibição não competitiva, a ação do Cu é relatada por estudos que exploraram a ação de metais na enzima urease. Segundo Shaw (1954), o Cu é um dos principais cátions metálicos de maior afinidade com os grupos sulfidrila da enzima urease e, portanto, apresenta ser eficiente na formação de sulfitos insolúveis para inativação da ação enzimática da molécula.

Por se tratar de inovações tecnológicas recentes, a predição da eficiência de uso dos FEA pelas culturas, sob diferentes condições de solo, clima e manejo, ainda são pouco descritas. Embora outros índices possam ser empregados para avaliação da eficiência de uso de fertilizantes agrícolas (DOBERMANN, 2007), o método direto com ^{15}N é o único capaz de distinguir a origem do N presente na planta e o destino do N proveniente do fertilizante no sistema. Com isso, a metodologia de traçador isotópico é uma ferramenta indispensável para estudos que objetivam elucidar com maior clareza e eficiência o destino do fertilizante no sistema solo-planta (CANTARELLA, 2007).

Com base no exposto, este estudo objetivou avaliar a eficiência de uso de N e B em dois estádios vegetativos (V8 e VT) do milho a partir da aplicação em superfície da ^{15}N -ureia tratada com H_3BO_3 e CuSO_4 , em condições controladas de casa de vegetação.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Instalação e condução experimental

O experimento de vaso foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Ciências do Solo da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), localizada no município de Piracicaba, Estado de São Paulo, Brasil (22°42' S 47°38' O e 560 metros de altitude), no período compreendido entre 2 de setembro a 18 de dezembro de 2016.

O solo utilizado foi coletado no campo experimental da ESALQ/USP, no município de Piracicaba, SP, Brasil (22°42'S 47°37'O e 575 metros de altitude), em área recém-preparada e cultivada anteriormente com mandioca (*Manihot esculenta*). O solo foi classificado como Latossolo Vermelho Amarelo distrófico (EMBRAPA, 2013), de textura média, correspondente a um Typic Haplustox (SOIL SURVEY STAFF, 2014).

A amostragem para caracterização físico-química do solo foi realizada com trado tipo sonda, na mesma camada de coleta. A partir da média de três amostras compostas, a análise química foi determinada de acordo com Raij et al. (2001), as quais foram descritas pelas seguintes propriedades: pH (CaCl₂) = 5,4; C total (colorimetria) = 21 g kg⁻¹; P extraível (resina) = 27 mg kg⁻¹; S extraível (fosfato de cálcio 0,01 M) = 5 mg kg⁻¹; K trocável (resina) = 2,6 mmolc kg⁻¹; Ca trocável (resina) = 22 mmolc kg⁻¹; Mg trocável (resina) = 11 mmolc kg⁻¹; Acidez potencial (H+Al, por SMP) = 22 mmolc kg⁻¹; Al trocável (KCl) = 0 mmolc kg⁻¹; Capacidade de troca catiônica = 58 mmolc kg⁻¹; Saturação de bases = 62%; Cu trocável (DTPA) = 1,0 mg dm⁻³; Fe trocável (DTPA) = 21 mg dm⁻³; Zn trocável (DTPA) = 2,9 mg dm⁻³; Mn trocável (DTPA) = 30,5 mg dm⁻³; B trocável (água quente) = 0,17 mg dm⁻³. A análise granulométrica foi efetuada pelo método do densímetro (GEE e BAUDER, 1986), apresentando composição para argila, silte e areia de 203, 64 e 733 g kg⁻¹, respectivamente.

Após a coleta, o solo foi seco ao ar por 10 dias e peneirado em malhas granulométricas de 2 mm. A capacidade máxima de retenção de água (CRMA) do solo foi determinada pela ISO (2003), por meio da diferença entre os valores de solo úmido pré-drenado em areia e solo seco (105°C). Com base na massa seca de solo, a CRMA foi mensurada em 0,275 g g⁻¹ solo.

A correção e adubação do solo foi fundamentada na recomendação para experimentos em vasos com solo, segundo Malavolta (1980) e Novais, Neves e Barros (1991), por meio da homogeneização de corretivo e fertilizantes sólidos em betoneira (em pré-semeadura) e aplicações parceladas de soluções nutritivas em cobertura (K, micronutrientes e remediativas).

Com base no método de saturação por bases (%), foi aplicado 0,34 g de calcário dolomítico (PRNT 70%, com 17,8% Ca e 10,2% Mg) por kg⁻¹ solo, a fim elevar a saturação por bases para 70%. O fornecimento de P foi realizado com a aplicação de 200 mg P kg⁻¹ solo, na forma de superfosfato simples e superfosfato triplo, considerando atender concomitantemente o suprimento de Ca e S. A adubação potássica foi aplicada na dose de 150 mg K kg⁻¹ solo e parcelada proporcionalmente em três aplicações: 1/3 da dose em pré-semeadura e outras duas aplicações em cobertura aos 16 e 26 dias após semeadura (DAS).

Para garantir o desenvolvimento inicial das plantas, foi adicionado em pré-semeadura 20 mg N kg⁻¹ solo na forma de sulfato de amônio (abundância natural de ¹⁵N), correspondente a 10% da dose total de N (200 mg N kg⁻¹ solo).

As unidades amostrais foram constituídas de vasos plásticos de base circular (diâmetro superior e inferior, respectivamente, de 30 e 20 cm, e altura de 25 cm), com capacidade de 12 L, vedados por sacos plásticos transparentes e, preenchidos com 13 kg de terra fina seca ao ar (TFSA). Após a mistura mecânica dos insumos, o solo foi envasado e umedecido com 2,5 L de água deionizada (70% da CRMA) para o período de incubação, durante 35 dias. A manutenção da umidade foi mantida pelo selamento parcial dos vasos com filmes plásticos perfurados e a reposição da água perdida por evaporação, cada 3 dias.

Ao término do período de incubação, no dia 18 de outubro de 2016, foram semeadas 2 sementes de milho por vaso a 20 mm de profundidade. O híbrido de milho empregado foi o AG 8061 PRO da Agrocere[®], material propagativo de ciclo precoce, alto potencial produtivo e com resistência genética às principais pragas da cultura (*Helicoverpa zea*, *Spodoptera frugiperda* e a *Diatraea saccharalis*). Adicionalmente, as sementes foram tratadas industrialmente com os fungicidas Fludioxonil e Metalaxyl, e o inseticida Clotianidina, de modo a assegurar a sanidade e poder germinativo das sementes. Após o período de emergência (4 DAS) e desenvolvimento inicial de plântulas, realizou-se o desbaste de uma planta de milho por vaso.

A irrigação foi realizada por meio da aferição diária da massa dos vasos e a água foi repostada para manutenção de aproximadamente 50% da CRMA. No período de avaliação do N-NH₃ volatilizado (18 a 33 DAS), a irrigação foi realizada pela inclinação dos vasos e a infiltração completa da água em área oposta à faixa de aplicação dos tratamentos, evitando-se incorporar ao solo, abruptamente, os fertilizantes nitrogenados aplicados em superfície e, assim, reduzir o processo de perdas de NH₃. Por ocasião da colheita, a rega foi suspensa um dia antes do corte de plantas, com o intuito de retardar os processos de decomposição das raízes.

Os micronutrientes catiônicos cobre, manganês e zinco foram acrescidos na forma de reagentes sulfatados, via solução nutritiva nas doses respectivas de 1,2 , 3,5 e 4,5 mg de cada elemento kg⁻¹ solo, as quais foram parceladas nos mesmos dias de aplicação de K em cobertura (16 e 26 DAS) pelo pipetamento de alíquotas de 10 mL. O suprimento com B foi omitido para impedir a sobreposição de respostas aos tratamentos com B, evitando-se, ainda, possíveis efeitos deletérios pelo excesso do micronutriente.

Após a aplicação dos tratamentos (18 DAS), mesmo com a provisão do nutriente pela calagem e adubação fosfatada, foi observado sintoma de deficiência de Ca, diagnosticado visualmente pelo amarelecimento, sinais de necrose e dilaceração das margens das folhas mais novas. A deficiência foi remediada por meio de três aplicações paliativas do macronutriente, distribuídas em intervalos de 5 dias (22, 27 e 32 DAS) nas doses de 50, 100 e 50 mg Ca kg⁻¹ solo, com solução de CaCl₂. Diante disso, a última aplicação em cobertura de K foi ministrada com K₂SO₄, a fim de reduzir o excesso de Cl no solo.

O controle fitossanitário foi realizado após a ocorrência de tripses (ordem Thysanoptera), pela aplicação de inseticida Tiametoxam + Lambda-cialotrina e óleo mineral (inseticida natural indutor de anoxia), ambos na dose de 2 mL L⁻¹ calda, aos 33 DAS. Preventivamente, foi incluso ao tratamento fitossanitário o acaricida abamectina (2 mL L⁻¹ calda).

A temperatura ambiente (°C) e a umidade relativa do ar (%) foram monitoradas por um data logger, com o registro de dados a cada 15 minutos (Figura 3.1). Quando interpretados em unidades-térmicas, os períodos de desenvolvimento foram expressos em graus-dia de desenvolvimento (GDD), em °C, conforme método proposto por Arnold (1959). Os valores de GDD foram calculados pela somatória da diferença entre a temperatura média diária e a temperatura de base (Tb), descrita pela seguinte equação: $GDD = [(Temperatura\ máxima + Temperatura\ mínima)/2] - Tb$. A Tb adotada foi de 10°C, temperatura basal inferior considerada mais indicada para o milho (CROSS; ZUBER, 1972).

Figura 3.1 - Médias diárias de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) durante a condução do experimento em casa de vegetação.

A temperatura do ambiente foi controlada por sistema de ventilação automática, sendo o acionamento e desligamento conduzido por um termostato ajustado para 26°C. Ao longo de todo o período experimental, a média de temperatura na casa de vegetação foi de 25,6°C, com picos médios de máximo e mínimo de 32,6°C e 19,8°C, respectivamente. As oscilações diárias de temperatura ocasionaram acúmulo médio diário de 16,2 GDD, sob umidade relativa média do ar de 79%.

3.2.2 Delineamento experimental e tratamentos e caracterização dos fertilizantes

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com três repetições, com duas avaliações no tempo. Os tratamentos foram constituídos pela aplicação em superfície de 180 mg N kg⁻¹ solo dos seguintes fertilizantes nitrogenados: (a) Ureia não tratada (U); (b) Ureia recoberta com 0,40% B (U+0,40% B); (c) Ureia recoberta com 0,52% B (U+0,52% B); (d) Ureia recoberta com 0,64% B (U+0,64% B); (e) Ureia recoberta com 0,88% B (U+0,88% B); (f) Ureia recoberta com 0,40% B e 0,15% Cu (U+CuB); (g) Ureia recoberta com N-(*n*-butil) triamida tiofosfórica (U+NBPT). Os N-fertilizantes foram aplicados na forma granulada

e marcados com traçador isotópico ^{15}N com enriquecimento de 0,85% de átomos em abundância.

Para estabelecer padrões de comparação de aplicabilidade prática, os últimos dois tratamentos (U+CuB e U+NBPT) foram definidos em fertilizantes já comercializados, que são designados de fertilizantes de “eficiência aumentada” e subclassificados no grupo de “estabilizados”. As proporções do tratamento com B foram definidas a partir dos resultados de volatilização de NH_3 previamente discutidos no capítulo 2 deste trabalho. Mesmo com a omissão de tratamentos com apenas Cu, a avaliação desse micronutriente foi preservada pela comparação entre as fontes equivalentes em concentração de B (U + 0,40% B e U + CuB). A relação B e Cu foi determinada em proporção similar ao produto comercial “FH Nitro Mais”, o qual é constituído pela ureia recoberta com 0,40% B e 0,15% Cu e registrado pela patente brasileira PI 0700921-6 A (HERINGER, 2008). O NBPT foi adicionado na dose de 530 mg kg^{-1} ureia, pela aplicação de solução concentrada com 13% do composto. Para descontar a contaminação cruzada de ^{15}N entre vasos e a volatilização de NH_3 oriunda do próprio solo, foi incluso um tratamento controle, sem a aplicação de fertilizante.

A aplicação dos tratamentos foi realizada no período de definição de potencial produtivo do milho, no dia 5 de novembro de 2016 (18 DAS), com 297 GDD acumulados, e 50% das plantas em estágio V4 (4 folhas totalmente expandidas). Os fertilizantes foram aplicados superficialmente em faixas delimitadas por sulcos rasos, com 3 cm de largura e comprimento médio de 23,5 cm. A faixa abaixo do coletor foi demarcada por gabaritos plásticos de 9 cm de diâmetro e recebeu a aplicação de 896 mg N por unidade experimental, correspondente a 38% da dose total (2340 mg N).

Com base na literatura (MALAVOLTA, 1980) e na textura do solo do estudo, para a aplicação superficial do fertilizante optou-se por utilizar a menor dose de N recomendada para experimentos em vasos (200 mg kg^{-1} solo), que é a indicada para solos menos argilosos. A escolha foi tomada para evitar uma aplicação excessiva do fertilizante e reduzir os impactos sobre o desenvolvimento da planta pela concentração do fertilizante aplicado em linha e em superfície. Em plantas jovens, a aplicação concentrada da ureia pode causar clorose foliar pelo efeito tóxico de salinidade e amônia, causando mudanças no balanço hormonal, diminuição da atividade metabólica, e perda da turgescência celular (FAN; MACKENZIE, 1994; OUYANG; MACKENZIE; FAN, 1998). Sob condições restritivas pelo cultivo em vaso, o excesso de sais na faixa de aplicação do fertilizante poderia causar efeito osmótico negativo, induzindo estresse hídrico localizado e, conseqüentemente, inibindo a absorção e o crescimento das plantas nessa região (MUNNS, 2002).

Os grânulos de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ enriquecidos em ^{15}N foram produzidos, em conformidade com os padrões industriais, no Laboratório de Isótopos Estáveis do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), em Piracicaba/SP. A granulação da $\text{CO}(^{15}\text{NH}_2)_2$ foi baseada no método de agitação e aglomeração por crescimento (OTHMER, 1998), a partir da mistura de partículas finas de $\text{CO}(^{15}\text{NH}_2)_2$ com aspersão do ligante fluido (H_2O) em prato rotativo de aço inoxidável.

Os grânulos despadronizados foram separados durante a caracterização física, mediante a análise granulométrica em peneiras padrão (ABNT n° 6 e 10, com malha de 2,00 e 3,35 mm, respectivamente) e dureza de grânulos (BRASIL, 2014). Devido à secagem do material ao final da granulação para obtenção da dureza, foi determinado o teor de biureto da ^{15}N -ureia, impureza tóxica produzida no processo de aquecimento do fertilizante amídico. A concentração de biureto foi determinado por método colorimétrico (FERREIRA; FRANZINI; GOMES NETO, 2007) e apresentou valor médio de 0,8%, faixa abaixo do nível máximo permitido por lei (1,5%) (BRASIL, 2016). Os grânulos de $\text{CO}(^{15}\text{NH}_2)_2$ não tratados apresentaram dureza média de 4,46 kgf e teor de N de 45,39%, características dentro das especificações regidas pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento).

Todos os tratamentos da ureia foram feitos pela aplicação pulverizada dos aditivos na superfície dos grânulos. Após o tratamento dos grânulos de $\text{CO}(^{15}\text{NH}_2)_2$ com os inibidores de urease, a caracterização do ^{15}N -fertilizante foi realizada pela descrição dos conteúdos totais de N e B, e pela determinação da abundância isotópica de ^{15}N por espectrometria de massas (Tabela 3.1). Os teores de N e B foram determinados pelos métodos Kjeldahl e espectrofotométrico com azometina-H, respectivamente, de acordo com os métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos (BRASIL, 2014).

De acordo com a Instrução Normativa n° 46 de 2016, os teores de B dos fertilizantes atenderam os limites de tolerância exigidos pela legislação, uma vez que são fertilizantes mistos de aplicação via solo que se encontram na faixa de tolerância entre o limite mínimo (30% abaixo do teor declarado) e máximo (até 1,5 vez acima do teor declarado) (BRASIL, 2016).

Os aditivos foram incorporados com base na massa de ureia a ser tratada (relação m/m). Para auxiliar a interpretação de resposta pelo aumento do revestimento com B, as doses de H_3BO_3 foram acrescidas em proporções equidistantes à concentração de 0,12% B.

Tabela 3.1 - Abundância de ^{15}N , conteúdo total de N e B da ^{15}N -ureia granulada e tratada com inibidores de urease.

Fertilizante ¹	Abundância de ^{15}N	Teor de N	Teor de B
	% de átomos	%	%
U	0,854	45,4	-
U + 0,40% B	0,850	43,1	0,35
U + 0,52% B	0,846	42,1	0,47
U + 0,64% B	0,850	42,4	0,58
U + 0,88% B	0,853	42,3	0,85
U + CuB	0,851	43,4	0,42
U + NBPT	0,853	45,0	-

¹U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) proveniente do tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente; NBPT: tratamento com 0,053% de N-(*n*-butil) triamida tiofosfórica.

3.2.3 Avaliações

As avaliações no tempo foram realizadas durante o período vegetativo, de forma destrutiva, em duas fases fenológicas importantes do desenvolvimento da cultura de milho, descritas por Fancelli e Dourado Neto (2004), a saber: (a) V8: plantas com 8 folhas totalmente expandidas, aos 52 DAS e acúmulo de 827 GDD, no período de definição do número de fileiras por espiga, e (b) VT: pendoamento (diferenciação entre as fases vegetativa e reprodutiva), aos 61 DAS e acúmulo de 1036 GDD, na fase de máximo desenvolvimento e crescimento da planta.

As plantas de milho foram avaliadas em parte aérea (PA) e raízes. A biomassa da parte aérea foi subdividida nos compartimentos vegetais de folha, bainha, colmo e órgão reprodutivo (OR - pendão e primórdio floral feminino), sendo o desmembramento dessas partes e o início do processo de secagem efetuados no dia da colheita. A separação de raízes do solo foi realizada manualmente em laboratório pelo peneiramento do solo de toda parcela, em peneira de malha de 1 mm e lavagem em água corrente, priorizando-se evitar a perda de material vegetal e reduzir os danos mecânicos do processo. Após a lavagem, o sistema radicular foi particionado para a análise morfológica de raízes. A biomassa seca total das raízes foi quantificada após as avaliações morfológicas do sistema radicular, com secagem do material subamostrado e a soma das partes oriundas do particionamento.

Todas as amostras vegetais foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 65°C e, após atingirem a massa constante, pesadas em balança analítica de precisão 0,001g para determinação da biomassa seca. O material amostrado foi triturado em moinho tipo Willey,

homogeneizado, subamostrado e acondicionado em frascos plásticos tipo J30. As quantidades de nutrientes acumuladas foram calculadas pela multiplicação da concentração do nutriente (mg ou $\mu\text{g g}^{-1}$ MS) com a biomassa seca acumulada de cada compartimento vegetal (g MS planta⁻¹).

A amostragem de solo das unidades experimentais foi realizada durante a separação de raízes, garantindo a representatividade pela máxima homogeneização do solo contido em cada vaso. As amostras de solo foram secas em estufa ventilada a 40°C e finamente moídas em moinho de bola para determinações de N-total e abundância isotópica de ¹⁵N. O acúmulo de N no solo foi obtido por meio do produto da massa de solo seco (kg parcela⁻¹) e do teor de N (%).

3.2.4 Perdas de N-NH₃ por volatilização

A quantificação de NH₃ volatilizada foi determinada pela captura do gás em meio ácido por meio de coletor estático aberto, modificado de Alves et al. (2011). O sistema aberto foi escolhido por garantir o fluxo de ar na região de captura e, com isso, minimizar as interferências ocasionadas por formação de microclima.

Os coletores abertos foram confeccionados com recipiente cilíndrico de polipropileno com 9 cm de diâmetro e 6 cm de altura, sem tampa. A porção superior do coletor correspondeu ao fundo do recipiente (abertura ficando voltada para baixo), de modo a produzir uma barreira física ao NH₃ atmosférico, não emitido do solo. Na bordadura de abertura do recipiente (porção inferior do coletor), foi assentado o absorvedor de NH₃, constituído por espuma circular de polietileno (9 cm de diâmetro, 2 cm de espessura e densidade de 0,028 g cm⁻³) embebida com 9 mL de solução de ácido fosfórico (1,5 M com 5% de glicerina – v/v). Os coletores foram posicionados a 1 cm da superfície do solo e suspensos por suporte de três hastes plásticas, posicionados no mesmo local e permanecendo por todo o tempo de duração do experimento de avaliação da volatilização de NH₃. As perdas de NH₃ avaliadas nas parcelas sem aplicação de fertilizante (controle) foram subtraídas das unidades experimentais fertilizadas para descontar a volatilização de NH₃ proveniente do solo.

As coletas e reposições das espumas foram realizadas aos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 11 e 15 dias após aplicação do fertilizante (DAAF). Após cada amostragem, as espumas foram mantidas em sacos plásticos e acondicionadas em freezer (-15°C). A NH₃ retida nas espumas foi extraído com aproximadamente 150 mL de água deionizada. A determinação de N-NH₄⁺ das amostras foi realizada por sistema de análise por injeção em fluxo (FIA), com base na

formação de NH_3 em meio alcalino, gás permeável em membrana hidrofóbica (PTFE) e aferido em solução por condutividade (REIS et al., 1997).

As perdas de NH_3 foram interpretadas por meio da representação gráfica de perdas diárias e cumulativas, expressas em porcentagem de N aplicado, e a análise estatística das médias em três tempos. As perdas médias diárias foram comparadas nos intervalos de 0-3, 3-8 e 8-15 DAAF, sendo as perdas médias cumulativas de NH_3 também avaliadas em mesma distribuição temporal, ao final de cada intervalo (3, 8 e 15 DAAF).

3.2.5 Biometria e valor SPAD

O crescimento de plantas foi avaliado por medições na parte aérea das plantas de milho, como altura, diâmetro de colmos e índice de área foliar (IAF), nos estádios V8 e VT. A altura de planta compreendeu a distância entre a base da região caulinar, sem raízes adventícias, até a folha recém-expandida (F), primeira folha superior com lígula visível. O diâmetro dos colmos foi mensurado com paquímetro digital no centro do primeiro internódio visível, região do colmo logo acima das raízes adventícias. O IAF foi realizado em integrador de área foliar (modelo LAI-3100, LI-COR Inc., Lincoln, EUA) imediatamente após a colheita das plantas e separação dos compartimentos ou órgãos, preservando ao máximo a turgescência foliar.

O teor relativo de clorofila foi determinado no terço médio da folha recém-expandida (F), desconsiderando a área foliar da nervura central, pela leitura das unidades SPAD com clorofilômetro portátil (N-tester[®], Yara International ASA). Com princípio análogo ao clorofilômetro SPAD-502[®] (Konica Minolta Co., Osaka, Japão), o valor SPAD de cada unidade experimental foi calculado pela transformação do valor médio de 30 leituras, de acordo com Vieira-Megda (2013), pela fórmula (Yara International ASA, Noruega): $\text{SPAD} = (\text{NT} + 90) / 15$, em que: NT corresponde ao valor médio das leituras obtidas pelo clorofilômetro alternativo.

3.2.6 Análise morfológica do sistema radicular

As avaliações morfológicas do sistema radicular foram realizadas em 20% da massa fresca total de raízes de cada parcela (ROSSIELO et al., 1995), amostrada de forma representativa pelo diâmetro de raízes. Para retardar o processo de decomposição e as

alterações morfológicas do tecido vegetal, as amostras de raízes foram conservadas com solução de etanol 70% (v/v) e acondicionadas em frascos de vidros, mantidas refrigeradas a 4°C. Os resultados foram obtidos pela análise de imagem no software WinRhizo Pro (Regent Instruments Inc., Quebec, Canadá), conforme descrito por Bauhus e Messier (1999). As imagens foram obtidas em *scanner* profissional (modelo XL 1000, Epson Corp., Tokyo, Japão), equipado com unidade de luz adicional, e resolução de 400 dpi, de acordo com a metodologia proposta por Bouma, Nielsen e Koutstaal (2000), sem ser necessário alterar o contraste por coloração. Para captura das imagens, as raízes foram dispostas em uma cuba acrílica (20 cm de largura e 30 cm comprimento) com água, evitando-se a sobreposição das mesmas.

Os parâmetros avaliados pelo WinRhizo foram: comprimento de raízes (m), área superficial (m²) e volume de raiz (m³). As medidas de extensão foram ainda estratificadas por classes de diâmetro em três categorias: muito finas (< 0,5 mm), finas (0,5 a 2,0 mm) e grossas (> 2,0 mm), segundo a classificação de Bhom (1979). As variáveis foram extrapoladas para planta inteira com base na massa seca de raiz amostrada, de acordo com Crestana et al. (1994).

3.2.7 Aproveitamento do N-fertilizante

A concentração de N e abundância isotópica de ¹⁵N (% de átomos) de solo e planta foram determinadas em espectrômetro de massas modelo Hydra 20-20 (SerCon Co., Krewe, UK), acoplado ao analisador automático de C e N ANCA-GLS (BARRIE; PROSSER, 1996).

A partir da abundância isotópica (em % de átomos ¹⁵N) e do N acumulado de cada compartimento da planta, foi determinado o aproveitamento de N-fertilizante pelo método de diluição isotópica, calculado de acordo com Trivelin et al. (1994):

Nitrogênio na planta proveniente do fertilizante (NPPF)

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

$$\text{NPPF (mg planta}^{-1}\text{)} = ([\text{NPPF (\%)}] / 100) \cdot e$$

Eficiência de uso do N-fertilizante

$$\text{EUN-F (\%)} = ([\text{NPPF (mg planta}^{-1}\text{)}] / F) \cdot 100$$

Em que:

a = Abundância de ^{15}N na planta, em % de átomos;

b = Abundância de ^{15}N no fertilizante, em % de átomos;

c = Abundância natural de ^{15}N (0,3663% de átomos);

e = Nitrogênio absorvido pela planta (mg N planta^{-1});

F = Dose de N-fertilizante (mg N planta^{-1});

Para determinar o balanço do ^{15}N no sistema solo-planta, a recuperação do N-fertilizante no solo foi obtida analogamente pela aplicação das mesmas equações. O N não recuperado foi calculado pela diferença entre o N-aplicado e o recuperado no solo e na planta, e portanto, correspondeu ao total de perdas ocorridas durante todo o período de experimentação no sistema solo-planta-atmosfera.

3.2.8 Aproveitamento do B-fertilizante

A concentração de B nas plantas foi determinada por digestão via seca e método analítico colorimétrico, conforme descrito por Bataglia et al. (1983). O princípio do método consistiu na formação do complexo azometina-H, produto da reação de condensação catalisada pelo ácido bórico, com leitura espectrofotométrica a 420nm.

O aproveitamento do B-fertilizante foi avaliado por método indireto, a partir do cálculo da recuperação aparente (RA), índice comumente empregado em estudos para otimização da eficiência de fertilizantes, proposto por Dobermann (2007) e descrito pela seguinte equação:

Recuperação aparente (RA)

$$\text{RA (\%)} = (B_1 - B_0) / F \times 100$$

Em que:

B_1 = Boro absorvido pela planta de tratamentos com ácido bórico ($\mu\text{g B planta}^{-1}$);

B_0 = Boro absorvido pela planta de tratamento sem ácido bórico (U) ($\mu\text{g B planta}^{-1}$);

F = Dose de B-fertilizante;

3.2.9 Análise estatística

Após a análise exploratória dos dados pelo teste de pressuposições básicas, os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo programa R (R CORE TEAM, 2017). A partir da significância pelo teste F, a comparação de médias foi realizada pelo teste t (LSD) com $P \leq 0,05$, por meio do pacote ExpDes (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2013). Com intuito de contornar a variabilidade prevista no estudo com solo, a análise morfológica do sistema radicular foi avaliada em maior nível de significância ($P \leq 0,10$). Todas as representações gráficas foram realizadas no programa SigmaPlot (versão 11.0, Systat Software Inc., San Jose, EUA).

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Volatilização de NH_3

De modo geral, os inibidores de urease influenciaram diretamente as perdas de N- NH_3 diárias (Figura 3.2 A) e cumulativas (Figura 3.2 B) da ureia aplicada em superfície, distinguindo o comportamento de resposta pelo atraso e magnitude de perdas de N- NH_3 . Previamente, ressalta-se que as emissões de NH_3 quantificadas por coletores não refletem as trocas líquidas de NH_3 dos ecossistemas (BASH et al., 2010; ASHRAF; MAHMOOD; AZAM, 2003), uma vez que são desconsideradas a absorção e emissão de NH_3 pelas plantas, e há alterações das condições ambientais oriundas da própria metodologia experimental (LARA-CABEZAS; TRIVELIN, 1990; ARAÚJO et al., 2009; MIOLA et al., 2015). Somando-se isso à falta de calibração da adaptação metodológica para estimar com precisão a eficiência do coletor empregado no estudo, os resultados de volatilização de NH_3 apresentados têm caráter qualitativo e, portanto, devem ser interpretados somente pela comparação entre tratamentos.

Figura 3.2 - Perdas diárias (A) e cumulativas (B) de $N-NH_3$ pela aplicação em superfície de ureia (U) tratada com ácido bórico, sulfato de cobre e $N-(n-butyl)$ triamida tiofosfórica (NBPT) no período de 15 dias após a fertilização, estimadas por método qualitativo direto em condições controladas de casa de vegetação.

Em condições de umidade relativa do ar superiores à umidade relativa crítica da U (74%), os fertilizantes nitrogenados foram rapidamente capazes de absorver a água da atmosfera e do solo, dando início ao processo de dissolução dos grânulos. Embora não se possa atribuir o início do processo de hidrólise pela dissolução dos grânulos ao solo (OTTO et al., 2017), após 1 DAAF, a maioria dos grânulos de fertilizantes se encontravam dissolvidos no solo e os primeiros indícios de perdas de $N-NH_3$ já puderam ser perceptíveis pelo odor característico da amônia no ambiente.

O primeiro pico de perdas de $N-NH_3$, e de maior magnitude, ocorreu aos 3 DAAF com perda de 11% do N aplicado da ureia não tratada (U). Aos 3 DAAF, a ausência de inibidores de urease na U resultou em 58% da perda total de $N-NH_3$ desse fertilizante em 15 dias. Devido à intensificação do processo de hidrólise nos 4 DAAF, as perdas diárias de $N-NH_3$ reduziram-se nos dias subsequentes. Esses resultados também foram constatados em vários estudos na literatura, nos quais a taxa máxima de volatilização de NH_3 da urease, normalmente, deu-se de 2 a 4 DAAF (PEREIRA et al., 2009; DAWAR et al., 2011; GROHS et al., 2011; DOMINGHETTI et al., 2016; CANCELLIER et al., 2016).

A redução no processo de hidrólise após o pico de perda de NH_3 está relacionado ao pH e à reação de equilíbrio químico do N-amoniaco no solo ($NH_4^+ \leftrightarrow NH_3 + H^+$) (TISDALE; NELSON; BEATON, 1985). Após parte do NH_4^+ difundido ser adsorvido pela capacidade de troca catiônica (CTC) do solo, o pH ao redor dos grânulos tende a se equilibrar com a acidez do solo, especialmente com acidez ocasionada pelo processo de nitrificação (WATSON, 2000; SOMMER; SCHJOERRING; DENMEAD, 2004).

Tabela 3.2 - Perdas diárias de N-NH₃ pela aplicação em superfície de ureia tratada com ácido bórico, sulfato de cobre e N-(*n-butyl*) triamida tiofosfórica em intervalos distintos de dias após a fertilização em condições controladas de casa de vegetação.

Fertilizante ¹	Perdas diárias de N-NH ₃ (% N aplicado)		
	0-3 DAAF	3-8 DAAF	8-15 DAAF
U	7,1 ± 0,23 a	2,7 ± 0,30 d	1,2 ± 0,07 d
U + 0,40% B	1,7 ± 0,01 b	4,5 ± 0,14 ab	2,4 ± 0,07 bc
U + 0,52% B	1,8 ± 0,14 b	4,8 ± 0,19 a	3,0 ± 0,20 bc
U + 0,64% B	1,5 ± 0,29 bc	3,9 ± 0,26 bc	3,1 ± 0,16 b
U + 0,88% B	1,1 ± 0,15 c	3,7 ± 0,08 c	3,2 ± 0,45 b
U + CuB	1,6 ± 0,26 bc	4,5 ± 0,23 ab	2,2 ± 0,17 c
U + NBPT	0,2 ± 0,01 d	1,6 ± 0,09 e	4,8 ± 0,43 a
p>F	0,000	0,000	0,000
CV	14,54	9,82	17,37

¹U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) proveniente do tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente; NBPT: tratamento com 0,053% de N-(*n-butyl*) triamida tiofosfórica. DAAF: dias após aplicação do fertilizante. Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste LSD ($P \leq 0,05$). CV: coeficiente de variação (%).

Tabela 3.3 - Perdas acumuladas de N-NH₃ pela aplicação em superfície de ureia tratada com ácido bórico, sulfato de cobre e N-(*n-butyl*) triamida tiofosfórica em períodos de dias após a fertilização em condições controladas de casa de vegetação.

Fertilizante ¹	Perdas acumuladas de N-NH ₃ (% N aplicado)		
	3 DAAF	6 DAAF	15 DAAF
U	21 ± 0,7 a	33 ± 0,8 a	36 ± 0,9 a
U + 0,40% B	5 ± 0,0 b	24 ± 0,8 b	31 ± 0,7 bc
U + 0,52% B	5 ± 0,4 b	24 ± 1,4 b	33 ± 1,0 ab
U + 0,64% B	4 ± 0,8 bc	19 ± 1,7 c	28 ± 2,0 cd
U + 0,88% B	3 ± 0,4 c	17 ± 0,3 c	27 ± 0,7 d
U + CuB	5 ± 0,8 bc	23 ± 1,2 b	30 ± 1,5 bcd
U + NBPT	1 ± 0,0 d	5 ± 0,3 d	17 ± 0,7 e
p>F	0,000	0,00	0,00
CV	14,45	8,76	7,17

¹U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) proveniente do tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente; NBPT: tratamento com 0,053% de N-(*n-butyl*) triamida tiofosfórica. DAAF: dias após aplicação do fertilizante. Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste LSD ($P \leq 0,05$). CV: coeficiente de variação (%).

As perdas diárias de N-NH_3 foram afetadas pelos N-fertilizantes neste estudo (Tabela 3.2), sendo os picos de perdas de NH_3 representados em ordem cronológica e decrescente da seguinte forma: U (11,4% do N aplicado, aos 3 DAAF); U + 0,40% B (8,9% do N aplicado, aos 4 DAAF); U + 0,52% B (8,1% N aplicado, aos 4 DAAF); U + CuB (8,0% do N aplicado, aos 4 DAAF); U + 0,64% B (6,5% do N aplicado, aos 4 DAAF); U + 0,88% B (5,7% do N aplicado, aos 4 DAAF); U + NBPT (2,2% do N aplicado, aos 6 DAAF).

Independente do intervalo de tempo, a presença dos inibidores de urease reduziu as perdas cumulativas de N-NH_3 durante todo experimento (Tabela 3.3). Exceto pelo comportamento atípico da U+0,52%, as perdas acumuladas de N-NH_3 da U foram maiores que os demais tratamentos, totalizando perda mínima de N-NH_3 de 36% do N aplicado com o término da avaliação (15 DAAF).

Aos 3 DAAF, coincidindo com o período crítico para perdas de NH_3 , os fertilizantes com inibidores reduziram, em relação à U, de 16 a 20% as perdas acumuladas de N-NH_3 . Aos 6 DAAF, com o aumento das perdas diárias de N-NH_3 dos tratamentos com H_3BO_3 , começaram a ocorrer maiores distinções entre tratamentos. Ao final dos 15 DAAF, as perdas acumuladas de N-NH_3 da U+0,40%B foi inferior à U+0,88%B. O U+NBPT foi o de melhor desempenho, reduzindo as perdas acumuladas de N-NH_3 em 20%, 28% e 19% para os 3, 6 e 15 DAAF, respectivamente, em comparação à ureia não tratada.

Com perdas de NH_3 proporcionalmente bem menores em comparação a U, os tratamentos com H_3BO_3 atrasaram em um dia o pico de perdas de N-NH_3 (4 DAAF), apresentando diferenças entre tratamentos quanto à grandeza dessas perdas. Os fertilizantes com maiores doses de B (U+0,64% e U+0,88% B) apresentaram desempenho de inibição muito similares para as perdas acumuladas de N-NH_3 aos 6 DAAF, promovendo redução, em média, de 16% e 8% em relação à U e aos demais fertilizantes com H_3BO_3 (U+0,40% B, U+CuB e U+0,52% B), respectivamente. Aos 15 DAAF, quando comparada à U não tratada, a U+0,88% B reduziu em 9% as perdas acumuladas de N-NH_3 , o que pode ser considerado um desempenho intermediário em relação à U+NBPT. Esses resultados indicam o efeito da ação competitiva do H_3BO_3 na enzima urease, descrito por Benini et al. (2004) e constatado por outros autores com experimentos sob condições controladas e em campo (GROHS et al., 2011; STAFANATO et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2013; FARIA et al., 2014; DOMINGHETTI et al., 2016; CANCELLIER et al., 2016; OTTO et al., 2017).

Quando comparados os tratamentos com mesma dose de B (U+0,40% B e U+CuB) para averiguar o efeito do Cu, novamente se confirmou a baixa eficiência de inibição da enzima urease pelo metal. Embora alguns autores tenham indicado reduções nas perdas de N-

NH₃ pelo uso do Cu (RECH; POLIDORO; PAVINATO, 2017), nesse presente estudo, a presença do elemento não afetou nenhuma das variáveis consideradas na volatilização de N-NH₃ (diária e acumulada). Segundo Fu, Yang e Wei (2009), ao avaliarem os parâmetros cinéticos da urease sob efeito de concentrações de Cu, mesmo que o metal influenciasse levemente a afinidade da enzima urease pela ureia, o Cu não exerceu efeitos sobre a configuração estrutural da enzima urease no solo. Ainda com o aumento da dose de Cu de 2,5 para 4,0%, Volk (1966), citado por Kiss e Simihaian (2002), também não encontrou qualquer mitigação na volatilização de NH₃ pelo tratamento da ureia perolada com CuSO₄.

A U+NBPT foi o fertilizante que apresentou a maior eficiência na redução das perdas de N-NH₃, atrasando em 3 e 2 dias o pico de perdas de N-NH₃, respectivamente, em relação à U e aos demais fertilizantes. As perdas diárias de N-NH₃ da U+NBPT somente foram maiores no último intervalo de tempo (8-15 DAAF). Esses resultados foram similares aos de Cantarella et al. (2005), que observaram um período de intensa inibição inicial (3 a 7 DAAF), precedida pela diminuição gradativa do efeito do inibidor. A alta eficiência de inibição pelo NBPT deve ser atribuída ao forte bloqueio de três pontos ativos da enzima pelo NBPTO, fosfato de N-(*n*-butil) triamida, composto oxidado análogo (MANUNZA et al., 1999).

Segundo Cantarella (2007), o NBPT é atualmente o inibidor de urease disponível no mercado com resultados mais consistentes, devido à sua similiaridade de solubilidade e difusividade com a ureia. Mesmo com grande reprodução de resultados positivos, o desempenho do NBPT como inibidor depende de fatores como pH, textura do solo, matéria orgânica, evapotranspiração, temperatura, umidade relativa do ar e velocidade do vento (SILVA et al., 2017). Exemplo disso, é a maior suscetibilidade de degradação do NBPT em condições de pH ácido e elevadas temperaturas (ENGEL; JONES, WALLANDER, 2011).

Em suma, os resultados desse estudo demonstraram que, mesmo não cessando por completo as perdas de N-NH₃ por volatilização, os fertilizantes com inibidores de urease, categorizados como “estabilizados”, foram hábeis em mitigar as perdas de N-NH₃ e, ao retardar os picos de perdas de NH₃, aumentariam as chances de incorporação do fertilizante pela ocorrência de chuvas. A “janela de incorporação” obtida pelo efeito temporário de ação dos inibidores é de extrema importância em condições de campo, uma vez que a presença de resíduos culturais, um componente desconsiderado nesse estudo, poderia potencializar ainda mais a atividade da urease (TRIVELIN et al., 2002; DAS ROS; AITA; GIACOMINI, 2005; VITTI et al., 2007) e servir de barreira física para incorporação do fertilizante ao solo (FRENEY et al., 1994).

A incorporação do fertilizante pela água das chuvas, um fator possível de ser avaliado somente em condições de campo, pode reduzir ainda mais as perdas de NH_3 , pois o maior contato do fertilizante com o solo promoveria o aumento na adsorção de NH_4^+ por cargas negativas (ERNANI, 2008), o que favoreceria a permanência do N-amoniaco no solo e, por consequência, reduziria as perdas por volatilização de NH_3 (LARA-CABEZAS; KORNDORFER, MOTTA, 1997).

3.3.2 Produção de biomassa seca e crescimento

Na primeira avaliação (estádio V8), a produção de biomassa seca (Figura 3.3 A) foi afetada negativamente pelo incremento de H_3BO_3 em doses maiores (0,64 e 0,88% B), em relação a U (127,6 g MS planta⁻¹). Embora não tenham diferido do controle (97,8 g MS planta⁻¹), os mesmos tratamentos também não apresentaram diferença em relação à U+NBPT (115g MS planta⁻¹), tratamento sem B, excluindo, desse modo, possíveis efeitos sintomáticos de toxidez que justificasse a redução na biomassa pelo excesso do micronutriente. Além disso, a falta de diferenciação entre a maior dose de B (0,88% B) e doses inferiores de B é outro ponto que reforça a ausência de alteração por ação tóxica do elemento. Em adição, a menor produção de biomassa pelo tratamento controle indica que o milho respondeu ao N aplicado.

Ainda que sejam tratamentos representados por extremos opostos em perdas de NH_3 por volatilização, a U não tratada e a U+NBPT não diferiram entre si para o acúmulo de biomassa. A ausência de resposta em biomassa pela adição de inibidores da urease também teve reflexo nas menores doses de B (0,40% e 0,52%), que não diferiram da U não tratada. Esses resultados foram semelhantes aos experimentos em campo de outros pesquisadores, nos quais não se observaram diferenças em produção vegetal tão significativas quanto às perdas de NH_3 por volatilização (NASCIMENTO, 2012; FARIA et al., 2013; SILVA, 2016; DOMINGHETTI, 2016; CANCELLIER et al., 2016; SILVA et al., 2017). Em parte, a menor alteração em biomassa pelas perdas de NH_3 pode ser justificada pela capacidade de absorção foliar de NH_3 pelas plantas, que pode atingir até 15% do N aplicado em superfície para milho, dependendo da área foliar da cultura (SCHONINGER, 2014).

Figura 3.3 - Produção de biomassa seca (g planta⁻¹) (A e B), distribuição porcentual de compartimentos vegetais (C), e relação raiz/parte aérea (D) de plantas de milho, aos 52 dias após semeadura (V8). Letras iguais dentro de cada compartimento da planta não diferem entre si pelo teste LSD ($P \leq 0,05$). *Letras referentes à análise estatística do órgão reprodutivo (OR), compartimento vegetal de parte aérea. U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) pelo tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente; NBPT: tratamento com 0,053% de N-(*n*-butil) triamida tiofosfórica. *OR: órgão reprodutivo.

Com variações ainda menores em relação a planta inteira, os compartimentos de folha e órgão reprodutivo foram as únicas variáveis da biomassa de parte aérea afetadas pela aplicação de N. Quanto ao acúmulo de biomassa de raízes (Figura 3.3 B), a U não tratada foi superior (32,4 g MS planta⁻¹) aos demais tratamentos, não diferindo apenas do U+0,40% B (29,2 g MS planta⁻¹) e do controle. Esse maior acúmulo de biomassa no sistema radicular afetou diretamente a distribuição de biomassa total (Figura 3.3 C) e a relação raiz/parte aérea (Figura 3.3 D) das plantas de milho. A redução na biomassa de folha e o aumento da biomassa de raízes dos tratamentos U e U+0,40% B confirmaram a estratégia fisiológica das plantas voltada para o desenvolvimento radicular. Nesses tratamentos mais afetados pela volatilização de NH₃, o maior acúmulo de biomassa no sistema radicular provavelmente está associado à maior necessidade do desenvolvimento radicular em condições restritivas de N, especialmente resultantes do cultivo em vaso.

Em condições adequadas de fertilidade, os vegetais distribuem maior parte da biomassa para a parte aérea em detrimento ao crescimento do sistema radicular (GEDROC et al., 1996), uma vez que o gasto energético necessário para aquisição dos nutrientes torna-se reduzido (MILLER; CRAMER, 2004). Diante disso, os resultados de relação raiz/parte aérea levam a inferir que as plantas do tratamento com U não tratada e U+0,40% B, únicos que não diferiram do controle, priorizaram desenvolver estrategicamente o sistema radicular para contornar o ambiente de menor fertilidade em N, o que se relacionou com a menor disponibilidade de N oriunda das perdas de NH_3 por volatilização. Sob condições de baixa disponibilidade de N, as plantas de milho apresentaram maior relação de raiz/parte aérea, resultando em maior alocação de assimilados nas raízes em relação à parte aérea da cultura (MI; CHEN; ZHANG, 2007).

Com base na comparação entre tratamentos com e sem o nutriente metálico (U+0,40% B e U+CuB), foi observado que a presença de Cu aumentou em 5% a distribuição de biomassa foliar. Considerado um micronutriente de média probabilidade de resposta para o milho (LUCAS; KNEZEK, 1972), o Cu é um elemento indispensável para a fotossíntese, respiração, proteção de estresse oxidativo e lignificação, sendo que aproximadamente metade de todo Cu presente nos vegetais está alocado nos cloroplastos, associados à plastocianina, componente da cadeia de transporte de elétrons do fotossistema I (MARCHSNER, 2012).

Na segunda avaliação (61 DAS), mesmo com o aumento médio de 60% da biomassa acumulada em V8 durante um curto período de tempo, não houve diferenças entre os tratamentos para a produção de biomassa (Figura 3.4 A e B), distribuição de biomassa seca (Figura 3.4 C), ou relação raiz/parte aérea (Figura 3.4 D). A ausência de resposta para o acúmulo de biomassa pode ser explicada pelo desencontro entre as taxas máximas de acúmulo de biomassa e o acúmulo de N. Schoninger (2014), ao avaliar o efeito de época na adubação em cobertura do milho, observou que o pico de acúmulo de N ocorreu entre os estádios V8 e V12, aproximadamente 16 dias antes do pico de acúmulo de biomassa seca, o qual foi atingido entre os estádios de V12 e R1.

Figura 3.4 - Produção de biomassa seca (g planta⁻¹) (A e B), distribuição porcentual de compartimentos vegetais (C), e relação raiz/parte aérea (D) de plantas de milho aos 61 dias após semeadura (VT). Letras distintas dentro de cada compartimento da planta diferem entre si pelo teste LSD ($P \leq 0,05$). U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) pelo tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente; NBPT: tratamento com 0,053% de N-(*n*-butil) triamida tiofosfórica. *OR: órgão reprodutivo.

Considerando as elevadas perdas de NH_3 do fertilizante e a ocorrência precoce de remobilização de N nas plantas de milho, acredita-se que o nutriente perdido na volatilização, possivelmente, induziu ao estresse abiótico de plantas, o que pode ter contribuído para a antecipação da antese e a diluição de efeito dos tratamentos. O suprimento adequado de N para o milho após o florescimento é essencial para assegurar a atividade fotossintética das folhas por maior tempo, garantindo o *stay-green*. Quando a disponibilidade de N é limitada, próximo ou após o florescimento, ocorre a remobilização de N de órgãos vegetativos, como folhas e colmos, para os órgãos reprodutivos da planta (POMMEL et al., 2006; NING et al., 2013).

A altura de inserção da folha recém-expandida (F) não apresentou diferenças entre os tratamentos, independente do tempo de avaliação (V8 e VT) (Tabela 3.4). Ainda que seja esperado que plantas mal nutridas em N sejam menos eficientes na assimilação de CO_2 e, consequentemente, apresentem redução de altura pela redução da divisão celular de zonas

meristemáticas (ARNON, 1975), a ausência de N (controle) não causou diminuição em relação aos demais tratamentos.

Assim como os resultados da produção de biomassa seca, as variáveis biométricas de diâmetro de colmo (DC), índice de área foliar (IAF) e valor SPAD foram afetadas apenas em V8 (Tabela 3.4).

Tabela 3.4 - Altura da folha recém-expandida (F) (cm), diâmetro de colmos (mm), índice de área foliar (IAF) ($\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$) e valor SPAD de plantas de milho em V8 e VT, respectivos aos 52 e 61 dias após a semeadura (DAS).

Fertilizante ¹	Altura da F cm	DC mm	IAF $\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$	Valor SPAD
V8				
U	87 ± 0,8	22,7 ± 0,5 a	7859 ± 242 ab	46 ± 2,2 b
U + 0,40% B	84 ± 4,2	22,4 ± 0,4 a	7655 ± 19 ab	50 ± 1,8 ab
U + 0,52% B	86 ± 2,8	22,2 ± 0,3 a	7527 ± 154 ab	56 ± 1,8 a
U + 0,64% B	93 ± 7,5	22,6 ± 0,3 a	7169 ± 406 b	54 ± 0,5 a
U + 0,88% B	88 ± 7,4	22,0 ± 0,3 a	7345 ± 324 ab	52 ± 1,1 ab
U + CuB	85 ± 3,0	22,4 ± 0,4 a	7413 ± 140 ab	52 ± 0,9 ab
U + NBPT	86 ± 4,4	22,5 ± 0,3 a	7956 ± 117 a	54 ± 3,7 a
Controle	81 ± 4,7	20,6 ± 0,4 b	6263 ± 255 c	36 ± 5,2 c
p>F	0,814	0,04	0,004	0,000
CV	9,72	3,12	5,34	7,84
VT				
U	126 ± 8,8	21,0 ± 0,9	8201 ± 239	28 ± 1,4
U + 0,40% B	131 ± 1,7	20,9 ± 0,8	7841 ± 118	30 ± 0,6
U + 0,52% B	130 ± 7,4	20,5 ± 0,3	7408 ± 605	31 ± 3,5
U + 0,64% B	132 ± 0,9	21,1 ± 0,5	7587 ± 195	31 ± 1,7
U + 0,88% B	148 ± 9,2	20,9 ± 0,3	8419 ± 268	31 ± 2,9
U + CuB	130 ± 2,5	21,3 ± 0,8	7228 ± 648	28 ± 2,1
U + NBPT	132 ± 5,2	21,6 ± 0,2	7997 ± 151	33 ± 0,6
Controle	131 ± 7,2	20,2 ± 0,3	7457 ± 125	24 ± 2,0
p>F	0,428	0,708	0,283	0,186
CV	8,15	4,37	7,89	12,25

¹U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) pelo tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente; NBPT: tratamento com 0,053% de N-(*n*-butil) triamida tiofosfórica. DAAF: dias após aplicação do fertilizante. Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste LSD ($P \leq 0,05$). CV: coeficiente de variação (%).

A baixa disponibilidade de N às plantas no controle reduziu, em relação aos demais tratamentos, 4% do DC, não havendo diferenciação entre as fontes nitrogenadas. Esses resultados corroboram com os de Soares (2003), que também reportaram o aumento de crescimento de colmos em plantas de milho pela adubação nitrogenada. Além da funcionalidade estrutural de suporte às folhas e inflorescências, o colmo de milho tem papel importante sob o ponto de vista fisiológico, uma vez que é uma estrutura destinada ao armazenamento de sólidos solúveis que serão empregados no enchimento de grãos (FANCELLI; DOURADO NETO, 2004).

Não houve diferenças significativas entre os N-fertilizantes testados para o índice de área foliar (IAF). O controle diminuiu, em média e em relação aos demais tratamentos, 20% do IAF, o que remete a atuação direta do N nas zonas meristemáticas na divisão e expansão celular (TAIZ; ZEIGER, 2010). Segundo Sangoi et al. (2012), a área foliar do milho próxima da floração é de 6.000 a 9.000 cm², faixa coerente com os resultados obtidos em VT (61 DAS), com a diferenciação entre o período vegetativo e reprodutivo.

O valor SPAD foi influenciado pelo uso de inibidores e ausência de N. O maior índice SPAD foi obtido no tratamento U+NBPT, apresentando incremento de 50 e 17% em relação ao controle e U não tratada, respectivamente. O índice SPAD (“Soil Plant Analysis Development”) é gerado mediante leituras ópticas do limbo foliar em comprimentos de onda equivalentes aos picos de absorção da clorofila e, assim, quantifica valores proporcionais ao teor de clorofila na folha (RAMBO et al., 2011). Segundo Argenta et al. (2001), a medição indireta do teor de clorofila em plantas de milho correlaciona-se positivamente com a concentração de clorofila e N, exceto somente nos estádios iniciais de desenvolvimento da cultura, quando a precisão do método é reduzida. Com 50 a 70% do N total das folhas associadas aos processos enzimáticos dos cloroplastos (STOCKING; ONGUN, 1962; CHAPMAN; BARRETO, 1997), os incrementos do teor relativo de clorofila com uso dos inibidores de urease indicaram que o aumento na disponibilidade de N pela redução do processo de hidrólise pode ter efetivamente favorecido o aproveitamento de N, mesmo sem alteração na produção da biomassa.

Estudos indicaram que o método de leitura pelo valor SPAD apresentam resultados coerentes com respeito ao estado nutricional do milho (ZOTARELLI et al., 2003; RAMBO et al., 2004). Diante disso, a média dos valores de SPAD em VT (29) reiteram novamente a deficiência nutricional das plantas próximas do florescimento, pois encontram-se muito abaixo de valores considerados adequados pela literatura (ARGENTA et al., 2002; HURTADO et al., 2009), os quais são próximos a 60 para o milho.

3.3.3 Morfologia do sistema radicular

As alterações morfológicas de raízes nem sempre são evidenciadas no acúmulo de biomassa seca (HODGE, 2004). Isso pode ocorrer porque, enquanto o acúmulo de biomassa está relacionado ao custo energético de construção e manutenção, as variáveis abordadas no detalhamento morfológico está direcionado à capacidade de aquisição de nutrientes e água pelas plantas (BOUMA; NIELSON; KOUTSTAAL, 2000).

Na primeira avaliação (V8), a adição de inibidores a U afetou as classes de diâmetro para comprimento (Figura 3.5 A) e área superficial (Figura 3.5 B). do sistema radicular das plantas de milho, não ocorrendo alteração para volume de raízes (Figura 3.5 C). Com exceção da classe de raiz fina, os compartimentos de raízes muito finas e grossas apresentaram grande similaridade de resposta entre si.

Os valores de raiz total da U não tratada foi superior ao controle, tanto para comprimento quanto em área superficial, sem diferir de U+CuB. Em geral, solos com baixo suprimento de N promovem o aumento do crescimento de raízes de plantas de milho, como uma estratégia para aumentar a exploração de nutrientes do solo (WANG et al., 2003; TIAN et al., 2005).

Os valores para comprimento total de raízes variaram de 600 a 344 m, podendo ser representados os tratamentos em ordem decrescente da seguinte forma: U (600 m); U+CuB (481 m); Controle (476 m); U+40% (466 m); U+NBPT (428 m); U+0,52% (357 m); U+0,88% (351 m); U+0,64% (344 m). Com menor distinção, a área superficial dos tratamentos foi dividida em dois grupos que não diferiram entre si: (1) U (2.223 cm²), U+40% B (2.009 cm²) e U+CuB (1.931 cm²) e (2) U+NBPT (1.817 cm²), U+52% B (1.611 cm²), U+0,88% B (1.592 cm²) e U+0,64% (1.509 cm²). Semelhantes estatisticamente entre si, o volume das raízes de milho ficou compreendido entre 97 a 74 cm³.

Figura 3.5 - Comprimento (A), área superficial (B) e volume (C) de raízes de plantas de milho com fracionamento do total em classes de diâmetro de raiz muito fina (< 0,5 mm), fina (0,5 – 2,0 mm) e grossa (> 2,0 mm), após 52 dias da semeadura (V8). Letras distintas dentro de cada classe diferem entre si pelo teste LSD ($P \leq 0,10$). * Estatística da classe raiz grossa. U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) pelo tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente; NBPT: tratamento com 0,053% de N-(*n*-butil) triamida tiofosfórica.

Não houve resposta para adição de Cu no revestimento da U. Aparentemente, as diferenciações em comprimento de raiz entre U+0,40% B e U+CuB foram equiparadas nas classes de raízes finas e muito finas, o que resultou na equivalência desses tratamentos em área superficial para raiz total.

As maiores doses de H_3BO_3 no revestimento da U diminuiu em, aproximadamente, 41% a formação de raízes muito finas em comparação a U não tratada, não diferindo de U+NBPT e U+0,40% B. Mesmo com redução da biomassa seca de raízes pelo aumento de H_3BO_3 em V8 (52 DAS), isso não se refletiu, aparentemente, sobre a morfologia do sistema radicular em aspectos que indiquem efeito de estresse abiótico.

Com aplicação de uma mesma dose de N, as doses de H_3BO_3 do revestimento adicionaram, proporcionalmente, 1,7; 2,2; 2,7 e 3,7 mg B kg⁻¹ solo. De acordo com Fageria (2000), ainda que estes teores sejam superiores ao recomendado para experimentos em vasos, as doses de B aplicadas se encontram muito abaixo da dose tóxica (8,7 mg B kg⁻¹ solo) e dentro de níveis considerados adequados (4,7 mg B kg⁻¹ solo) para o milho. Com tratamentos que consistiram na aplicação de 0, 1, 2, 3, 6, 12 e 24 mg B kg⁻¹, o autor relatou que o comprimento de raízes de milho não foi influenciado pela aplicação de B. Segundo o mesmo autor, a ausência de resposta foi justificada pelo baixo requerimento de B para desenvolvimento radicular, que se tornou ainda mais evidenciado em relação às demais culturas abrangidas no estudo (trigo > feijão > soja > arroz > milho). Desta forma, a variação de resposta nesse presente estudo deve ser mais atribuída à disponibilidade de N do que pela disponibilidade crescente de B no solo.

O desenvolvimento do sistema radicular das plantas está estreitamente associado com a disponibilidade e absorção de N. Como consequência, o crescimento de raízes pode ser modificado em condições de insuficiência do nutriente. Como observado no presente estudo para U não tratada, Hatlitligil, Olson e Compton (1984) relataram que o maior crescimento do sistema radicular de milho promoveu maior acúmulo de biomassa seca total e produção de grãos em condições de casa de vegetação. Salvo em casos raros de salinidade pelo uso de N-fertilizante (FANCELLI; TSUMANUMA, 2007), segundo Bull (1993), o aumento da produtividade do milho pela aplicação de N pode ser atribuído, em partes, pelos efeitos positivos no crescimento radicular das plantas.

Em V8, as raízes muito finas e finas corresponderam, em média, a 21 e 77% do comprimento total radicular, respectivamente. As raízes de menor diâmetro são de grande relevância na absorção de nutrientes e água para o crescimento e desenvolvimento de plantas (BHOM, 1979). Em contrapartida, as raízes grossas estão relacionadas ao processo de

ancoragem e suporte, com menor participação na quantidade de absorção de água e nutrientes em relação às raízes finas (WILCOX et al., 2004). Nesse estudo, as raízes grossas tiveram menor participação nos tratamentos de U e controle, não diferindo apenas da U+0,64% B. O aumento de raízes grossas pela incorporação de inibidores da urease na U pode sugerir melhorias na condição de fertilidade solo.

Teoricamente, plantas com maior comprimento de raízes apresentam maior capacidade de explorar e adquirir, por unidade de carbono investido, nutrientes e água no solo (BOUMA et al., 2001). Em geral, as gramíneas com raízes mais longas e finas apresentam menor requerimento nutricional externo para o máximo desenvolvimento, quando comparadas com espécies de sistema radicular menor e mais grosso (HILL et al., 2006). Com isso, plantas com maior desenvolvimento radicular em comprimento, área superficial e volume apresentam vantagem adaptativa em condições de baixa disponibilidade de nutrientes. Apesar do custo energético dispendido para aumento de eficiência de absorção, plantas com raízes mais finas geralmente apresentam características de genótipos ou espécies mais adaptadas a ambientes de baixa fertilidade e, muitas vezes, apresentam crescimento mais rápido (HODGE, 2004).

Na segunda avaliação (VT), não houve diferenças significativas ($p \leq 0,10$) entre tratamentos para comprimento, área superficial e volume de raízes (Tabela 3.5). Novamente, a diluição de efeito dos tratamentos provavelmente está associada às condições nutricionais das plantas em cada período, uma vez que alterações morfológicas do sistema radicular das plantas estão relacionadas aos fatores edáficos e, portanto, as modificações podem ocorrer com a disponibilidade e mobilidade de nutrientes ao solo (MARSCHNER, 2012). Com baixo suprimento de N pelas altas perdas de $N-NH_3$, as adaptações morfológicas foram equiparadas entre os tratamentos, por meio de mecanismos que visaram produzir certo grau de compensação para o desbalanço nutricional (SOARES et al., 2009).

Diversos estudos reportaram maior comprimento radicular específico de gramíneas em condições de baixa disponibilidade de nutrientes (LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2003; HILL et al., 2006; BATISTA; MONTEIRO, 2006). O desenvolvimento de raízes finas e longas implicam em maior ciclagem de raízes e menor emissão de raízes mais grossas, o que pode ser desfavorável para situações em que a longevidade do sistema radicular é importante (HILL et al., 2006).

Tabela 3.5 - Comprimento (m), área superficial (cm²) e volume das raízes (cm³) de plantas de milho em classes de diâmetro e total, aos 61 dias após semeadura (VT).

Fertilizante ¹	Raiz muito fina	Raiz fina	Raiz Grossa	Total de raiz
	(< 0,5 mm)	(0,5 - 2,0 mm)	(< 2,0 mm)	
Comprimento (m)				
U	379 ± 58	114 ± 13	7,2 ± 1,0	500 ± 70
U + 0,40% B	320 ± 14	98 ± 8	7,5 ± 1,0	425 ± 13
U + 0,52% B	413 ± 46	108 ± 10	6,9 ± 0,6	528 ± 55
U + 0,64% B	359 ± 48	107 ± 15	7,4 ± 1,1	473 ± 62
U + 0,88% B	467 ± 36	117 ± 5	8,6 ± 0,9	592 ± 40
U + CuB	370 ± 46	111 ± 8	7,0 ± 0,2	488 ± 53
U + NBPT	479 ± 42	130 ± 5	7,3 ± 0,7	616 ± 43
Controle	381 ± 108	97 ± 17	9,1 ± 1,2	487 ± 124
p>F	0,519	0,489	0,657	0,502
CV	24,67	17,05	21,26	21,85
Área Superficial (cm ²)				
U	884 ± 118	941 ± 102	2058 ± 222	233 ± 27
U + 0,40% B	756 ± 44	823 ± 81	1851 ± 93	271 ± 26
U + 0,52% B	990 ± 115	868 ± 86	2087 ± 172	229 ± 24
U + 0,64% B	838 ± 101	898 ± 160	1976 ± 240	239 ± 37
U + 0,88% B	1085 ± 76	943 ± 38	2317 ± 126	289 ± 21
U + CuB	876 ± 116	913 ± 72	2036 ± 171	247 ± 6
U + NBPT	1101 ± 89	1042 ± 44	2380 ± 84	236 ± 17
Controle	916 ± 262	785 ± 121	1969 ± 330	268 ± 47
p>F	0,562	0,624	0,785	0,514
CV	24,14	17,39	20,28	15,41
Volume (cm ³)				
U	66 ± 6	24 ± 2	3 ± 0,8	94 ± 9
U + 0,40% B	62 ± 4	23 ± 3	4 ± 1,2	90 ± 8
U + 0,52% B	67 ± 4	21 ± 2	3 ± 0,6	91 ± 5
U + 0,64% B	64 ± 7	23 ± 2	3 ± 1,2	90 ± 9
U + 0,88% B	75 ± 4	22 ± 1	3 ± 0,1	101 ± 3
U + CuB	67 ± 5	23 ± 3	3 ± 0,3	93 ± 7
U + NBPT	75 ± 1	25 ± 2	2 ± 0,3	102 ± 2
Controle	65 ± 8	22 ± 1	5 ± 2,1	91 ± 5
p>F	0,486	0,960	0,787	0,701
CV	12,48	17,50	18,60	10,98

¹U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) pelo tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente; NBPT: tratamento com 0,053% de N-(*n-butyl*) triamida tiofosfórica. Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste LSD ($P \leq 0,10$). CV: coeficiente de variação (%).

O sistema radicular do milho pode sofrer modificações em resposta de alterações de disponibilidade de água e nutrientes (LIU et al., 2005; VAMERALI et al., 2003). A plasticidade radicular está associada à cinética de absorção de nutrientes e água do meio, bem como às condições do solo para proliferação das raízes (ROBINSON, 2001). Dessa forma, segundo Bohm (1979), os estudos de crescimento radicular devem ser interpretados juntamente com fatores do solo que influenciam na distribuição de raízes, como a porosidade, densidade, pH, disponibilidade de nutrientes e água.

3.3.4 Acúmulo de N e aproveitamento do N-fertilizante

Houve diferenças entre os tratamentos em relação ao acúmulo de N em V8 (Figura 3.6 A e C) e VT (Figura 3.6 B e D). Com exceção do órgão reprodutivo (OR) e raízes em VT, todas as demais partes de plantas de milho apresentaram diferenças na quantidade de N acumulada. Entretanto, frente à alta representatividade do compartimento folhas (equivalente a mais da metade do N total acumulado na planta) e à similaridade de resposta dos compartimentos da parte aérea (folha, colmo, bainha e OR), os compartimentos foram resumidos em valores acumulados de planta inteira (Figura 3.6 A e B), parte aérea (PA) e raízes (Figura 3.6 C e D).

Independente do período de avaliação, o tratamento controle mostrou baixo acúmulo de N, resultante da reduzida disponibilidade de N nativo do solo. Com acréscimo de 206 mg N por planta entre os períodos, o acúmulo de N do controle foi inferior aos demais tratamentos em 54 e 28%, respectivamente, para V8 e VT.

A redução drástica de N acumulado na ausência de adubação nitrogenada é explicada pela demanda nutricional do milho, que está compreendida entre o desenvolvimento vegetativo e até o enchimento de grãos. Apesar da cultura requerer quantidades menores do nutriente, o período crítico para demanda de N no milho está compreendido nos estádios iniciais, uma vez que o crescimento e desenvolvimento do radicular encontra-se limitado e, o potencial de rendimento é estabelecido (SANGOI; ERNANI; SILVA, 2007). Segundo Cantarella (1993), a absorção de N pelo milho é intensificada entre 40 a 60 dias após a emergência, o que representa em, aproximadamente, metade do N exigido pela cultura por todo o ciclo.

Figura 3.6 - Acúmulo de nitrogênio (mg planta^{-1}) de plantas de milho em V8 (A e C) e VT (B e D), correspondentes respectivamente aos 52 e 61 dias após semeadura. Letras distintas dentro de cada compartimento vegetal diferem entre si pelo teste LSD ($P \leq 0,05$). U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) pelo tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente; NBPT: tratamento com 0,053% de N-(*n*-butil) triamida tiofosfórica. OR: órgão reprodutivo.

Na primeira avaliação (V8), com exceção da U+052% B, o U+NBPT ($2.173 \text{ mg N planta}^{-1}$) foi o único fertilizante a diferir da U não tratada ($1.392 \text{ mg N planta}^{-1}$) para acúmulo de N. O maior desempenho do NBPT como inibidor de urease proporcionou um aumento de N de 36% ($780 \text{ mg N planta}^{-1}$), 37% ($670 \text{ mg N planta}^{-1}$) e 33% ($111 \text{ mg N planta}^{-1}$), para planta inteira, parte aérea e raízes, respectivamente, em relação à U sem inibidor. Esses resultados são contrários aos de Silva et al. (2011), que não reportaram diferenças entre a U e U+NBPT para acúmulo de N em grãos de milho, encontrando apenas resposta para doses crescentes do N em cobertura. Na mesma linha, Cancellier et al. (2016) não observaram diferenças para o acúmulo de N em grãos da cultura para fontes nitrogenadas “estabilizadas” e de liberação controlada, obtendo efeito positivo para doses de N.

Os fertilizantes recobertos com H_3BO_3 em maiores proporções (0,64% e 0,88% B) apresentaram acúmulos de N na parte aérea semelhantes ao U+NBPT. Estes resultados condizem com os obtidos na volatilização de NH_3 , confirmando que a mitigação das perdas oriundas da hidrólise enzimática e, conseqüentemente, a manutenção do N-amídico no solo pelos inibidores da urease, foram eventos que influenciaram no maior aproveitamento da adubação nitrogenada com ureia. Contrariamente ao obtido em casa de vegetação, ao avaliar proporções variadas de B e Cu no recobrimento da ureia, Silva (2016) não observou diferenças para acúmulo de N em parte aérea, grãos ou parte aérea+grãos, sob condições de campo.

Diante da ausência de resposta para o acúmulo de N em estudos conduzidos em campo (SILVA et al., 2011; SILVA, 2016; CANCELLIER et al., 2016), pode-se assumir que o efeito dos inibidores de urease são dependentes do potencial de fornecimento de N pelo solo. Especialmente em solos com alto teor de matéria orgânica e de elevado potencial de mineralização, a capacidade do solo em fornecer o nutriente aos vegetais pode ser aumentada, ocasionando maior disponibilização de N e, assim, a diluição do efeito do fertilizante.

Na segunda avaliação (VT), foi possível verificar maiores diferenças de acúmulo de N entre os N-fertilizantes. Ainda que U+0,40% B ($1.598 \text{ mg N planta}^{-1}$) tenha diferido da U não tratada ($1.337 \text{ mg N planta}^{-1}$) em acúmulo total de N, quando observadas as quantidades acumuladas de N na parte aérea (Figura 3.6 D), o baixo acúmulo de N pela U recoberta com H_3BO_3 na menor dose de B (U+0,40% e U+CuB) torna-se evidenciado em comparação a U não tratada. Novamente, o recobrimento da U com maiores doses de H_3BO_3 (0,64 e 0,88% B) apresenta valores muito próximos em relação ao U+NBPT, não havendo diferenças estatísticas entre esses tratamentos.

A redução do N acumulado nas plantas de milho em VT (61 DAS), quando comparada ao V8 (52 DAS), pode estar relacionada às mobilizações de N na planta que ocorrem na antese, levando a perdas de N pela parte aérea, especialmente em folhas senescentes. De acordo com Francis, Schepers e Sims (1997), ao atingir os estádios reprodutivos, as plantas de milho alteram o metabolismo do N e, ao quebrar compostos nitrogenados (proteínas e aminoácidos) durante a senescência e remobilização (RAVEN, 1988; SOMMER; SCHJOERRING; DENMEAD, 2004), podem promover elevação das concentrações internas de NH_3 e NH_4^+ . Caso a NH_3 no interior da planta não seja rapidamente assimilada, com o intuito de contornar o processo de toxidez pelo acúmulo de N-amoniacoal, as quantidades excedentes de NH_4^+ podem ser liberadas para atmosfera por meio dos estômatos na forma de NH_3 , juntamente com a corrente transpiratória. Segundo Francis,

Schepers e Vigil (1993), as perdas de N pela parte aérea durante o período reprodutivo do milho podem alcançar proporções de 20% do total da aplicação do N-fertilizante, especialmente entre o período de início do enchimento de grãos (R2) e grãos maduros (R6), podendo atingir perdas variando de 45 a 81 kg N ha⁻¹. As trocas gasosas de NH₃ pelas folhas ocorrem por difusão, sendo a intensidade e o sentido (emissão e absorção) regulados pela concentração de NH₃ da planta em relação a atmosfera (GESSLER; RIENKS; RENNEBERG, 2002) e pelo ponto de compensação de NH₃ da planta (FARQUHAR et al., 1980). Desse modo, o elevado ponto de compensação de NH₃ da antese, especialmente das folhas mais velhas, possivelmente promoveu perdas de N e consequente redução do nutriente acumulado na parte aérea.

Frente ao comportamento atípico do tratamento U+52% B para V8 e VT, pode-se inferir que ocorreram interferências além da casualidade. Essa hipótese é reforçada pela oscilação de resultados da caracterização do fertilizante, indicando possível alteração da homogeneidade do H₃BO₃ nos grânulos do lote. Desse modo, as variações observadas desse tratamento poderiam ser justificadas pela distribuição desigual do aditivo sobre a ¹⁵N-ureia.

Mesmo com o aumento da disponibilidade de N proporcionado pelos inibidores de urease devido à redução de perdas da volatilização de NH₃, diante da baixa variação para biomassa seca, a interpretação do aproveitamento nutricional por índices complementares (ANEXO B), como a eficiência de absorção (conteúdo total do nutriente na planta / biomassa seca de raiz) (SWIADER; CHYAN; FREIJI, 1994) e a eficiência de utilização (biomassa seca total / conteúdo total de nutriente na planta) (SIDDIQI; GLASS, 1981), tornaram-se inviáveis pelo acúmulo do nutriente ser menor do que o ganho em produção vegetal.

Tabela 3.6 - Nitrogênio na planta proveniente do fertilizante (NPPF) em % e mg por planta, e eficiência de uso de N-fertilizante (EUN-F), em %, nos compartimentos de folha, colmo, órgão reprodutivo (OR), parte aérea (PA), raiz e planta inteira (Total) de milho, aos 52 dias após semeadura (V8).

Fertilizante ¹	Folha	Bainha	Colmo	OR	PA	Raiz	Total
----- NPPF (%) -----							
U	40 ± 6	39 ± 3	41 ± 4	45 ± 2 c	41 ± 5	35 ± 1	40 ± 4
U + 0,40% B	45 ± 5	47 ± 4	51 ± 5	56 ± 3 ab	46 ± 5	47 ± 4	46 ± 4
U + 0,52% B	40 ± 6	40 ± 3	44 ± 3	54 ± 3 abc	42 ± 5	44 ± 1	42 ± 4
U + 0,64% B	51 ± 3	52 ± 2	56 ± 2	62 ± 1 a	53 ± 2	46 ± 2	52 ± 2
U + 0,88% B	44 ± 4	46 ± 5	50 ± 4	56 ± 5 ab	46 ± 4	42 ± 5	45 ± 4
U + CuB	42 ± 5	39 ± 6	44 ± 4	52 ± 3 bc	43 ± 5	41 ± 2	43 ± 4
U + NBPT	45 ± 2	50 ± 3	55 ± 3	62 ± 3 a	48 ± 2	49 ± 2	49 ± 2
p>F	0,728	0,217	0,124	0,028	0,546	0,076	0,479
----- NPPF (mg planta ⁻¹) -----							
U	329 ± 27 c	48 ± 9 c	52 ± 2 c	33 ± 8	463 ± 28 c	79 ± 9 c	541 ± 23 c
U + 0,40% B	430 ± 23 bc	64 ± 5 bc	73 ± 4 bc	47 ± 2	614 ± 19 bc	117 ± 10 bc	731 ± 29 bc
U + 0,52% B	428 ± 7 bc	86 ± 9 ab	138 ± 21 ab	66 ± 8	718 ± 34 ab	141 ± 21 ab	859 ± 55 ab
U + 0,64% B	493 ± 7 ab	72 ± 8 bc	105 ± 22 bc	48 ± 4	718 ± 24 ab	92 ± 8 c	810 ± 26 b
U + 0,88% B	462 ± 46 ab	72 ± 2 bc	97 ± 14 bc	46 ± 9	677 ± 35 b	100 ± 18 bc	777 ± 53 b
U + CuB	400 ± 18 bc	53 ± 2 c	73 ± 4 bc	44 ± 5	570 ± 9 bc	98 ± 9 bc	668 ± 2 bc
U + NBPT	538 ± 58 a	103 ± 17 a	198 ± 64 a	58 ± 7	897 ± 143 a	166 ± 17 a	1063 ± 160 a
p>F	0,017	0,016	0,040	0,098	0,009	0,015	0,009
----- EUN-F (%) -----							
U	14,1 ± 1,1 c	2,1 ± 0,4 c	2,2 ± 0,1 b	1,4 ± 0,3	19,8 ± 1,2 c	3,4 ± 0,4 c	23,1 ± 1,0 c
U + 0,40% B	18,4 ± 1,0 bc	2,7 ± 0,2 bc	3,1 ± 0,2 bc	2,0 ± 0,1	26,3 ± 0,8 bc	5,0 ± 0,4 bc	31,2 ± 1,2 bc
U + 0,52% B	18,3 ± 0,3 bc	3,7 ± 0,4 ab	5,9 ± 0,9 ab	2,8 ± 0,3	30,7 ± 1,4 ab	6,0 ± 0,9 ab	36,7 ± 2,3 ab
U + 0,64% B	21,1 ± 0,3 ab	3,1 ± 0,3 bc	4,5 ± 0,9 bc	2,1 ± 0,2	30,7 ± 1,0 ab	3,9 ± 0,4 c	34,6 ± 1,1 b
U + 0,88% B	19,7 ± 1,9 ab	3,1 ± 0,1 bc	4,1 ± 0,6 bc	2,0 ± 0,4	28,9 ± 1,5 b	4,3 ± 0,8 bc	33,2 ± 2,3 b
U + CuB	17,1 ± 0,8 bc	2,2 ± 0,1 c	3,1 ± 0,2 bc	1,9 ± 0,2	24,4 ± 0,4 bc	4,2 ± 0,4 bc	28,6 ± 0,1 bc
U + NBPT	23,0 ± 2,5 a	4,4 ± 0,7 a	8,5 ± 2,7 a	2,5 ± 0,3	38,3 ± 6,1 a	7,1 ± 0,7 a	45,4 ± 6,8 a
p>F	0,017	0,016	0,040	0,098	0,009	0,015	0,009

¹U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) pelo tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente; NBPT: tratamento com 0,053% de N-(*n-butyl*) triamida tiofosfórica. Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste LSD ($P \leq 0,05$). CV: coeficiente de variação (%).

A eficiência de uso do N-fertilizante (EUN-F) foi diretamente afetada pelos fertilizantes “estabilizados” propostos nesse estudo. Em V8 (Tabela 3.6), o recobrimento com menor dose de H_3BO_3 (U+0,40% B e U+CuB) não influenciou a EUN-F (Tabela 3.6). As maiores doses de H_3BO_3 (0,64 e 0,88% B), mesmo apresentando desempenho inferior ao U+NBPT, proporcionaram aumento de, aproximadamente, 10,8% na EUN-F em relação a U não tratada.

A EUN-F da U não tratada é compatível com os resultados obtidos por Gava et al. (2010). A partir do acúmulo de biomassa seca e nitrogênio pelo milho em função de doses de ^{15}N -ureia, estes mesmos autores reportaram que, na maior dose aplicada (200 kg N ha^{-1}), apenas 19% do N total acumulado na parte aérea do milho foi proveniente de N-fertilizante. Dessa forma, pode-se inferir que o potencial de mineralização do N-orgânico nativo do solo pode ser uma importante fonte de N para a cultura, especialmente em experimentos em campo (DUETE et al., 2008; GAVA et al., 2006).

Diversos estudos reportaram que a eficiência de uso do fertilizante nitrogenado pelo milho geralmente não ultrapassa 50% (GAVA et al., 2010; GAVA et al., 2006; DUETE et al., 2008; LARA-CABEZAS et al., 2000; COELHO et al., 1991), podendo ser menor quando comparada a maioria dos cereais, especialmente em condições com maiores pluviosidades e climas quentes, as quais potencializam as perdas de N no sistema (TRIVELIN et al., 2002; GHIBERTO et al., 2009). Estudos na região do Cerrado evidenciaram que a eficiência de uso de N (EUN) máxima para milho pode ser inconstante, variando de 50% a 60% do total de N aplicado (COELHO et al., 1991; FERNANDES et al., 1999).

Por ser um elemento exigido em grandes quantidades e com influência direta na produtividade da cultura, o manejo e recomendação de N são consideradas questões complexas no cultivo do milho, em virtude da multiplicidades de reações biológicas e químicas associadas à disponibilidade de N no sistema solo-planta (CANTARELLA; DUARTE, 2004). Além das condições edafoclimáticas, as variações na EUN-F pelo milho geralmente são dependentes de fatores como fonte de N (SILVA et al., 2011; LANGE; LARA-CABEZAS; TRIVELIN, 2010; LARA-CABEZAS; COUTO, 2007), dose de N (GAVA et al., 2010, DUETE et al., 2008), época e forma de aplicação dos fertilizantes (SCHONINGER, 2012; DUETE et al., 2008; LANGE; LARA-CABEZAS; TRIVELIN, 2010; LARA-CABEZAS; COUTO, 2007; LARA-CABEZAS et al., 2000). Além disso, seguindo as recomendações de N para cultura no sul do país (AMADO et al., 2006; FONTOURA; BAYER, 2009), o sistema de manejo empregado também pode afetar diretamente os valores da EUN-F pelo milho (GAVA et al., 2006).

Tabela 3.7 - Nitrogênio na planta proveniente do fertilizante (NPPF) em % e mg por planta, e eficiência de uso de N-fertilizante (EUN-F), em %, nos compartimentos de folha, colmo, órgão reprodutivo (OR), parte aérea (PA), raiz e planta inteira (Total) de milho, aos 61 dias após semeadura (VT).

Fertilizante ¹	Folha	Bainha	Colmo	OR	PA	Raiz	Total
----- NPPF (%) -----							
U	42 ± 5	37 ± 4	42 ± 4	43 ± 4	41 ± 4	33 ± 3 c	40 ± 4
U + 0,40% B	49 ± 5	46 ± 4	49 ± 4	52 ± 4	49 ± 5	40 ± 3 bc	48 ± 5
U + 0,52% B	53 ± 3	48 ± 2	50 ± 2	54 ± 3	52 ± 2	42 ± 2 ab	51 ± 2
U + 0,64% B	48 ± 6	46 ± 5	51 ± 4	54 ± 5	49 ± 5	39 ± 4 bc	48 ± 5
U + 0,88% B	53 ± 2	49 ± 2	53 ± 1	57 ± 1	53 ± 2	44 ± 1 ab	52 ± 1
U + CuB	50 ± 1	47 ± 1	50 ± 1	54 ± 0	50 ± 1	42 ± 0 ab	49 ± 1
U + NBPT	55 ± 3	55 ± 4	56 ± 3	63 ± 3	56 ± 3	48 ± 3 a	55 ± 3
p>F	0,407	0,092	0,198	0,054	0,274	0,047	0,225
----- NPPF (mg planta ⁻¹) -----							
U	290 ± 3 c	53 ± 2 c	67 ± 1 e	75 ± 6	485 ± 10 c	46 ± 2	531 ± 12 c
U + 0,40% B	431 ± 26 b	73 ± 3 bc	96 ± 2 bcd	92 ± 3	692 ± 30 b	63 ± 4	755 ± 32 b
U + 0,52% B	398 ± 28 b	78 ± 3 bc	81 ± 3 de	83 ± 4	641 ± 32 b	58 ± 7	699 ± 37 bc
U + 0,64% B	439 ± 23 b	85 ± 6 b	103 ± 6 abc	91 ± 15	719 ± 47 b	73 ± 24	792 ± 70 b
U + 0,88% B	472 ± 6 ab	95 ± 2 b	109 ± 5 ab	90 ± 12	765 ± 16 ab	76 ± 6	841 ± 10 ab
U + CuB	399 ± 22 b	72 ± 2 bc	86 ± 4 cde	92 ± 10	649 ± 35 b	65 ± 2	714 ± 35 b
U + NBPT	535 ± 57 a	124 ± 22 a	121 ± 15 a	112 ± 13	892 ± 93 a	102 ± 16	993 ± 109 a
p>F	0,003	0,004	0,002	0,224	0,002	0,103	0,003
----- EUN-F (%) -----							
U	12,4 ± 0,1 c	2,3 ± 0,1 c	2,9 ± 0,0 e	3,2 ± 0,2	20,7 ± 0,4 c	2,0 ± 0,1	22,7 ± 0,5 c
U + 0,40% B	18,4 ± 1,1 b	3,1 ± 0,1 bc	4,1 ± 0,1 bcd	3,9 ± 0,1	29,6 ± 1,3 b	2,7 ± 0,1	32,3 ± 1,4 b
U + 0,52% B	17,0 ± 1,2 b	3,3 ± 0,1 bc	3,5 ± 0,1 de	3,6 ± 0,2	27,4 ± 1,4 b	2,5 ± 0,3	29,9 ± 1,6 bc
U + 0,64% B	18,8 ± 1,0 b	3,6 ± 0,2 b	4,4 ± 0,2 abc	3,9 ± 0,6	30,7 ± 2,0 b	3,1 ± 1,0	33,9 ± 3,0 b
U + 0,88% B	20,2 ± 0,3 ab	4,1 ± 0,1 b	4,6 ± 0,2 ab	3,8 ± 0,5	32,7 ± 0,7 ab	3,3 ± 0,3	35,9 ± 0,4 ab
U + CuB	17,1 ± 0,9 b	3,1 ± 0,1 bc	3,7 ± 0,2 cde	3,9 ± 0,4	27,7 ± 1,5 b	2,8 ± 0,1	30,5 ± 1,5 b
U + NBPT	22,9 ± 2,5 a	5,3 ± 0,9 a	5,2 ± 0,7 a	4,8 ± 0,6	38,1 ± 4,0 a	4,4 ± 0,7	42,5 ± 4,6 a
p>F	0,003	0,004	0,002	0,224	0,002	0,108	0,003

¹U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) pelo tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente; NBPT: tratamento com 0,053% de N-(*n-butyl*) triamida tiofosfórica. Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste LSD ($P \leq 0,05$). CV: coeficiente de variação (%).

Em VT (Tabela 3.7), o emprego de H_3BO_3 no recobrimento da U aumentou em torno de 10% a EUN-F da ^{15}N -ureia aplicada, em relação à U não tratada. Quase 20% superior em EUN-F em comparação à U não tratada, o U+NBPT não diferiu da U recoberta com a maior dose de H_3BO_3 (U+0,88% B).

Os resultados de N acumulado na parte aérea de plantas proveniente dos fertilizantes são semelhantes aos obtidos em campo. Ao comparar a recuperação de ^{15}N -ureia no cultivo convencional e no sistema plantio direto, Gava et al. (2006) relataram que, em média, apenas 25% do N total acumulado na parte aérea de plantas de milho foi proveniente do N-fertilizante. Resultados similares também foram obtidos por Duete et al. (2008), LARA-CABEZAS et al. (2000) e Coelho et al. (1991), que encontraram para a recuperação na parte aérea valores de 27, 24 e 31%, respectivamente.

Segundo LARA-CABEZAS et al. (2000), as perdas gasosas de N por volatilização de NH_3 e desnitrificação, a lixiviação e o escoamento superficial, bem como a imobilização microbiana, são processos que, ocorrem simultaneamente e, geralmente, induzem a uma baixa EUN-F pela cultura do milho. Dentre esses processos, devido à manutenção controlada da umidade do solo, ausência de resíduos culturais e à restrição da mobilidade pelo cultivo em vaso, a aplicação superficial dos N-fertilizantes torna a volatilização de NH_3 no processo mais limitante para EUN-F deste estudo.

3.3.5 Balanço do ^{15}N no sistema solo-planta

Não foi verificada diferença entre tratamentos para as concentrações de N no solo (ANEXO A). Com valores compreendidos em torno de 3 a 4% (Figura 3.7), a baixa recuperação de ^{15}N no solo entre V8 e VT confirma a baixa disponibilidade de N no sistema causada, muito provavelmente, pelas elevadas perdas ocorridas ao longo do período de condução experimento, indicando que boa parte do N-fertilizante disponível no solo foi aproveitado pelas plantas e determinado na primeira avaliação em V8.

Figura 3.7 - Balanço de nitrogênio no sistema solo-plantas com aplicação em superfície de ureia tratada com ácido bórico, sulfato de cobre e N-(*n-butil*) triamida tiofosfórica, no cultivo de milho em condições controladas de casa de vegetação, aos 51 (V8) e 62 (VT) dias após a semeadura. Letras distintas diferem em recuperação solo+planta pelo teste LSD ($P \leq 0,05$). U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) pelo tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente; NBPT: tratamento com 0,053% de N-(*n-butil*) triamida tiofosfórica.

Na avaliação em V8, o recobrimento com a menor dose de B (U+0,40%B e U+CuB) não mostrou efeito na recuperação de N, pois não diferiu da U não tratada, tratamento esse que obteve menor recuperação no presente estudo (Figura 3.7). Ainda que inferior ao U+NBPT, a adição de H_3BO_3 em maiores proporções (0,64% e 0,88% B) aumentou, em média, 30% a recuperação do N-fertilizante no sistema solo-planta, em relação a U não tratada. O U+NBPT apresentou desempenho superior e comportamento destacado em relação aos demais tratamentos, reduzindo o N não recuperado entre valores de 11 a 23%. Com resposta atípica ao longo da primeira avaliação, o comportamento de U+0,52% em V8 foi desconsiderado, devendo a incoerência de resultados ser atribuída à casualidade ou menor homogeneidade do aditivo no recobrimento.

Na avaliação em VT, os aditivos distinguiram categoricamente a recuperação de ^{15}N entre fertilizantes (Figura 3.7). A adição de inibidores de urease aumentou de 7 a 20% a recuperação de N-ureia no sistema solo-planta. Embora os tratamentos com doses de H_3BO_3 não tenham diferido entre si, o N recuperado na maior dose de H_3BO_3 foi similar ao obtido por U+NBPT. Mais uma vez, o balanço de ^{15}N para U+0,40% B e U+CuB demonstrou que não houve qualquer efeito para adição de Cu no recobrimento de U.

Com intuito de investigar a acurácia das perdas de $N-NH_3$ quantificadas nesse estudo, foram correlacionados os dados de N não recuperado e a perdas acumuladas de $N-NH_3$. Diante da alta correlação ($r = 0,85$; $p < 0,001$), pode-se concluir que a avaliação qualitativa das perdas de $N-NH_3$ é uma variável que se relaciona indiretamente à eficiência de uso do N-fertilizante pelas plantas.

Considerando a velocidade do vento como um dos principais fatores que regem o processo de volatilização de NH_3 (SOMMER; JENSEN; SCHJOERRING, 1993; BOARETTO et al., 2013), a troca de ar promovida pelo sistema de ventilação da casa de vegetação pode ter resultado em baixa recuperação de ^{15}N do sistema. Além de favorecer a volatilização pelo arraste físico forçado do ar, a corrente de ar criada pelos exaustores pode ter reduzido a absorção foliar pelas plantas do $N-NH_3$ emitido ao ambiente e afetado a avaliação da volatilização, uma vez que diminui a eficiência de captação de NH_3 pelos coletores.

Em experimentos de casa de vegetação para quantificação de volatilização de NH_3 , Alves (2006) reportou perdas de $N-NH_3$ com proporções similares (74% do N aplicado) pelo balanço de ^{15}N . Como observado durante a condução desse estudo, no primeiro experimento conduzido pela autora, a mesma obteve elevadas perdas pela interferência do sistema de exaustão do ambiente, concluindo ser um fator responsável por aumentar a volatilização e prejudicar a quantificação do $N-NH_3$ por distintas metodologias.

A estrutura arquitetônica entre as espécies (SOMMER; JENSEN; SCHJOERRING, 1993) e, até mesmo, as variações de área foliar de uma mesma espécie vegetal (BOARETTO et al., 2013), são fatores que interferem no aproveitamento de N-fertilizante, pois alteram a capacidade de absorção de NH_3 pelas folhas. Nesse sentido, a própria distribuição dos vasos sobre a bancada, mais espaçada para reduzir o autossombreamento entre plantas e, portanto, não representativa do dossel da cultura em condições normais de campo, pode ter contribuído para a baixa recuperação de N. Em condições naturais, ao limitar a passagem do vento, as culturas com dossel mais adensado promovem o aumento do tempo de residência do NH_3 próximo às folhas, podendo ocasionar menor dispersão do N-volatilizado para atmosfera e, assim, maior aproveitamento de N nessa forma (MARTHA JÚNIOR; TRIVELIN; CORSI, 2009).

Além dos fatores climáticos, as perdas por volatilização de NH_3 no solo são afetadas diretamente pelo pH do solo (SANGOI et al., 2003; TASCA et al., 2011). Diferentemente de fertilizantes amoniacais de reação ácida ou neutra, que permanecem mais estáveis na forma iônica de NH_4^+ , a ureia depende da hidrólise enzimática para liberação do N amoniacal. O consumo de prótons (H^+) e a elevação do pH do solo ao redor dos grânulos pelo processo de hidrólise (KISSEL; CABRERA; FERGUSON, 1988), promovem o descolamento da reação de equilíbrio do N-amoniacal do solo para formação de NH_3 , mesmo em solos ácidos. Considerando a forma de aplicação dos fertilizantes e do aumento das doses para fins de experimentação em vaso, a aplicação em faixa dos N-fertilizantes é mais um ponto que contribuiu para perdas de N- NH_3 , uma vez que as aplicações localizadas tendem a manter o pH do solo mais elevado no local de concentração do fertilizante (CANTARELLA et al., 2003; VITTI et al., 2007).

O manejo de irrigação foi outro aspecto que favoreceu às elevadas perdas de ^{15}N . A rega fora da faixa de aplicação do fertilizante favoreceu a volatilização de NH_3 , tanto pela não incorporação do fertilizante ao solo, quanto pelo aumento do potencial de evaporação de água no solo. Esse efeito é similar ao que ocorreria em condições de campo, quando precipitações insuficientes podem aumentar as perdas de NH_3 ao fornecer a umidade necessária à hidrólise sem incorporação da U ao solo (FRENEY et al., 1994; LARA-CABEZAS; KORNDORRFER; MOTTA, 1997; DA ROS; AITA; GIACOMINI, 2005; FENILLI et al., 2007).

Normalmente, existe certo receio em se realizar a adubação nitrogenada em solos com umidade que favoreceria as perdas de NH_3 por volatilização. De acordo com LARA-CABEZAS, Trivelin e Boaretto (1992), a taxa de evaporação do solo é um elemento de maior

importância do que a umidade do solo em si, para definição do tempo adequado de aplicação de fertilizantes nitrogenados não incorporados, uma vez que arraste de vapor d'água é um aspecto que afeta diretamente o potencial de perdas de N-NH_3 (LARA-CABEZAS; KORNDORRER; MOTTA, 1997). Em condições de casa de vegetação, devido à manutenção da umidade ambiente, o rápido secamento do solo, que em princípio reduziria ou interromperia o processo de hidrólise em condições naturais (CANTARELLA, 2007), não ocorreu e as condições favoráveis ao processo evaporativo do solo foram constantemente mantidas e, dessa forma, foram intensificadas as perdas.

Apesar de ser um processo menos expressivo durante a nitrificação, a oxidação de NH_4^+ para NO_2^- pode ocasionar a síntese de óxido nitroso (N_2O), outra fonte de perda do sistema, por ação da redutase de nitrito ou dismutação química do nitroxil (NOH). Embora pouco explorado, esse mecanismo de perda de N do solo é um dos principais vias de emissão de N_2O em solos aeróbicos adubados com fertilizantes amoniacais (BREMNER, 1997).

Deve ser salientado que as trocas gasosas de N via foliar (absorção e emissão), especialmente no processo de remobilização ocorrido durante o experimento, evidenciado com a redução de acúmulo de N e o amarelecimento ascendente das folhas mais velhas em VT, não foram quantificadas e, podem ter subestimado a eficiência de uso de N-fertilizante pelas plantas de milho. Desta forma, o N não recuperado no sistema não pode ser atribuído, somente, às perdas associadas diretamente ao solo, como a volatilização de NH_3 e demais gases, na nitrificação e desnitrificação.

3.3.6 Acúmulo de B e aproveitamento do B-fertilizante

O B é um dos micronutrientes mais restritivos para produção vegetal (BROWN; SHELPS, 1997). Além do importante papel que desempenha na síntese da parede celular e na integridade de membranas (CAKMAK; KURZ; MARSCHNER, 1995), o B apresenta atuação direta na atividade meristemática; metabolismo de carboidratos e fenóis; síntese de ácidos nucleicos e fitohormônios; germinação de grãos de pólen e crescimento do tubo polínico (MARSCHNER, 2012). Em plantas superiores, mais de 90% do B total está presente nas paredes celulares por complexações em configurações *cis-diol*, formadas por ligações cruzadas na pectina com cadeias de rhamnogalacturonana II, constituinte primário da parede celular de plantas superiores (O'NEILL et al., 1996).

Figura 3.8 - Acúmulo de boro ($\mu\text{g B planta}^{-1}$) de plantas de milho em V8 (A e C) e VT (B e D), correspondentes respectivamente aos 52 e 61 dias após semeadura. Letras distintas diferem pelo teste LSD ($P \leq 0,05$). U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) pelo tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente; NBPT: tratamento com 0,053% de N-(*n*-butil) triamida tiofosfórica. OR: órgão reprodutivo.

O acúmulo de B nas plantas de milho aumentou proporcionalmente às doses de H_3BO_3 no revestimento da U (Figura 3.8). Devido à mobilidade do micronutriente, o acúmulo de B nas raízes (Figura C e D) não seguiu a mesma distribuição do acumulado em planta inteira. Em VT, houve redução no acúmulo de B nas raízes para as menores doses de H_3BO_3 (U+0,40%, U+CuB e U+0,52% B). Entretanto, a similaridade entre U+0,88% B e U+0,40% B e a ausência de sintoma visual de toxidez sugere que o possível consumo de luxo do micronutriente não tenha afetado os resultados desse experimento.

A partir da avaliação de duas cultivares de arroz, Pavinato et al. (2009) também obtiveram resposta linear na concentração de B na parte aérea das plantas, com doses crescentes do micronutriente em solução nutritiva. Os mesmos autores relataram ainda aumento expressivo de raízes grossas e diminuição do comprimento de raízes, como características de toxidez severa de B nas plantas, diferentemente do observado por Fageria (2000) e do verificado no presente estudo.

A tolerância ao excesso de B varia amplamente entre as espécies e, até mesmo, entre genótipos da mesma espécie (MARSCHNER, 2012). Resultados de Fageria (2000) indicaram que as gramíneas, como o arroz e trigo, são mais eficientes no uso de B, do que as leguminosas, como feijão e soja. No mesmo estudo, os autores relataram que o milho foi mais responsivo à aplicação de B, sendo a necessidade de culturas em relação ao B aplicado, descrita pela seguinte ordem crescente: arroz < feijão < soja < milho.

O acúmulo de B nos órgãos das plantas é definido especialmente pela taxa de transpiração da cultura. Na maioria das espécies vegetais, a concentração de B aumenta com o desenvolvimento foliar, sendo a concentração interior maior no ápice do que na base (BROWN e SHELPS, 1997). Yamada e Lopes (1998) citaram que a baixa mobilidade do B nas plantas de milho é confirmada pelo maior teor de B em folhas velhas, em situações de deficiência do elemento. Com isso, os mesmos autores sugerem que o fornecimento de B para o milho deva ser realizado no solo para maior aproveitamento, uma vez que a aplicação foliar poderia ter efeito localizado e não suprir as exigências de novos tecidos em formação.

A alta relação entre o recobrimento da ureia com H_3BO_3 e o acúmulo de B na planta (Figura 3.9 A) pode ser associada à absorção facilitada do micronutriente, devido à movimentação do B por fluxo de massa, com equilíbrio entre as concentrações do nutriente na solução do solo e nas raízes das plantas. Apesar de haver divergências quanto à natureza de absorção de B (MALAVOLTA, VITTI, OLIVEIRA, 1997), a absorção passiva do mesmo é fundamentada pela difusão do H_3BO_3 não dissociado (sem carga) na bicamada lipídica da membrana, devido ao caráter lipofílico desse ácido e às mediações por canais e aquaporinas (DANNEL; PFEFFER; ROHMELD, 1997; DORDAS; BROWN, 2000; TYERMAN; NIEMIETZ; BRAMLEY, 2002).

Com valores variando entre 21 e 27%, a recuperação aparente do B-fertilizante entre tratamentos foi significativa apenas em VT (Figura 3.9 B). Assim como o observado para o acúmulo de B, mediante a comparação entre U+0,40% B e U+CuB, o aproveitamento de B-fertilizante aumentou em 5,4% com a adição de Cu no revestimento. De acordo com Favarin, Tezotto e Ragassi (2008), por não ser uma cultura que acumula grande quantidade de proteínas nos grãos, a resposta ao fornecimento de Cu pelo milho é alcançada, geralmente, somente com a maior entrada de N no sistema, ou em solos com teores muito limitantes do micronutriente. Nesses casos, o Cu deve ser aplicado, preferencialmente, via foliar (150 a 300 g Cu ha⁻¹).

Figura 3.9 - Acúmulo total de boro (A) e recuperação aparente do B-fertilizante (B) em plantas de milho, em função das doses de B empregadas no revestimento da ureia, aos 52 (V8) e 61 (VT) dias após semeadura. Letras iguais não diferem si pelo teste LSD ($P \leq 0,05$). U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) pelo tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente.

A recuperação de B-fertilizante na planta pode estar relacionada a interação do elemento com solo, por meio de processos de adsorção e complexação pela fração coloidal (argila e matéria orgânica). Ao avaliar o efeito do B e sua influência na adubação nitrogenada, Dourado Neto et al. (2004) concluíram que doses crescentes de H_3BO_3 (1, 2, 4 e 8 kg B ha^{-1} , mais controle) no sulco de semeadura não afetaram a produtividade de milho. Os mesmos autores sugeriram que a alta capacidade de adsorção do B ao solo e a elevada suscetibilidade à lixiviação da fonte podem ter causado redução de resposta à aplicação de B.

3.4 Conclusões

1. A adição de Cu ao recobrimento da U não apresenta efeito sobre a volatilização de NH_3 ;
2. O aumento da concentração de H_3BO_3 no recobrimento da U promove maior mitigação de perdas de NH_3 por volatilização e aumenta o aproveitamento do N-fertilizante;
3. A maior dose de B (0,88% B) no recobrimento da U apresenta eficiência de uso de N-fertilizante pelas plantas de milho similar ao uso de NBPT;

4. A ureia tratada com H_3BO_3 fornece B às plantas, ao mesmo tempo que otimiza a eficiência de uso do N-ureia;
5. Em uma associação conjunta com H_3BO_3 , o Cu pode ser reduzido ou dispensado do recobrimento da U por não influir na eficiência de uso do N-fertilizante.

Referências

- ALVES, A.C. **Métodos para quantificar a volatilização de N-NH₃ em solo fertilizado com uréia. 2006.** 40 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.
- ALVES, A.C.; OLIVEIRA, P.P.A.; HERLING, V.R.; TRIVELIN, P.C.O.; LUZ, P.H.C.; ALVES, T.C.; ROCHETTI, R.C.; BARIONI JÚNIOR, W. New methods to quantify NH₃ volatilization from fertilized surface soil with urea. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 35, n. 1, p. 133-140, 2011.
- AMADO, T.J.C.; BAYER, C.; CONCEIÇÃO, P.S.; SPAGNOLLO, E.; CAMPOS, B.H.C.; VEIGA, M. Potential of carbon accumulation in no-till soils with intensive use and cover crops in Southern Brazil. **Journal of Environmental Quality**, v. 35, n. 4, p. 1599-1607, 2006.
- ANDA - Associação Nacional para a Difusão de Adubos. **Anuário estatístico do setor de fertilizantes: 2014.** ANDA: São Paulo. 2014. 176p.
- ARAÚJO, E. da S.; MARSOLA, T.; MIYAZAWA, M.; SOARES, L.H. de B.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R. Calibração de câmara semiaberta estática para quantificação de amônia volatilizada do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 7, p.769-776, 2009.
- ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F. da; MIELNICZUK, J; BORTOLINI, C.G. Parâmetros de planta como indicadores do nível de nitrogênio na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 4, p. 519-527, 2002.

- ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F.; 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. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 13, n. 2, p.158-167, 2001.
- ARNOLD, C. Y. The determination and significance of the base temperature in a linear heat unit system. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, v. 74, n. 1 p. 430-445, 1959.
- ARNON, I. **Mineral nutrition of maize**. Bern: International Potash Institute, 1975. 452 p.
- ASHRAF, M.; MAHMOOD, T.; AZAM, F. Translocation and recovery of ^{15}N -labelled N derived from foliar uptake of $^{15}\text{NH}_3$ by rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. **Biology and Fertility of Soils**, v. 38, n. 4, p. 257-260, 2003.
- 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.
- BASH, J.O.; WALKER, J.T.; JONES, M.; KATUL, G.; NEMITZ, E.; ROBARGE, W. Estimation of in-canopy ammonia sources and sinks in a fertilized *Zea mays* field. **Environmental, Science & Technology**, v. 44, n. 5, p. 1683-1689, 2010.
- BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: Instituto Agronômico, 1983. 48p. (Boletim Técnico, 78).
- BATISTA, K.; MONTEIRO, F.A. Sistema radicular do capim-Marandu, considerando as combinações de doses de nitrogênio e de enxofre. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 5, p. 821-828, 2006.
- BAUHUS, J.; MESSIER, C. Evaluation of fine root length and diameter measurements obtained using RHIZO image analysis. **Agronomy Journal**, v. 91, n. 1, p. 142-147, 1999.

- BEHERA, S.N.; SHARMA, M.; ANEJA, V.P.; BALASUBRMANIAN, R. Ammonia in the atmosphere: a review on emission sources, atmospheric chemistry and deposition on terrestrial bodies. **Environmental Science and Pollution Resesearch**, v. 20, n. 11, p. 8092-8131, 2013.
- BENINI, S.; RYPNIEWSKI, W.R.; WILSON, K.S.; MANGANI, S.; CIURLI, S. Molecular details of urease inhibition by boric acid: insights into the catalytic mechanism. **Journal of American Chemistry Society**, v. 126, n. 2, p. 3714-3715, 2004.
- BOARETTO, R.M.; MATTOS, D. Jr.; QUAGGIO, J.A.; CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O. Absorption of $^{15}\text{NH}_3$ volatilized from urea by Citrus trees. **Plant and Soil**, v. 365, p. 283-290, 2013.
- BOHM, W. **Methods of studying root systems**. New York: Springer-Verlag, 1979. 188p.
- BOUMA, T.J.; NIELSEN K.L., VAN HAL J.; KOUTSTAAL, B. Root system topology and diameter distribution of species from habitats differing in inundation frequency. **Functional Ecology**, v. 15, n. 3, p. 360-369, 2001.
- BOUMA, T.J.; NIELSEN, K.F.; KOUTSTAAL, B.P. Sample preparation and scanning protocol for computerised analysis of root length and diameter. **Plant and Soil**, v. 218, n. 1-2, p. 185-196, 2000.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46, de 22 de novembro de 2016. Ficam estabelecidas as regras sobre definições, exigências, especificações, garantias, registro de produto, autorizações, embalagem, rotulagem, documentos fiscais, propaganda e tolerâncias dos fertilizantes minerais destinados à agricultura, na forma desta Instrução Normativa e seus Anexos I a V. Brasília: Diário Oficial da União. Seção 1, n. 234, p. 4. 07 de dezembro 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes minerais, orgânicos, organominerais e corretivos**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/DAS/CGAL, 2014. 220 p.

- BREMNER, J. M. Sources of nitrous oxide in soils. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 49, n. 1-3, p. 7-16, 1997.
- BROWN, P.H.; SHELP, B.J. Boron mobility in plants. **Plant and Soil**, v. 193, p. 85-101. 1997.
- BULL, L. T. Nutrição mineral do milho. In: BÜLL, L. T.; CANTARELLA, H. (Ed.). **Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1993. p. 63-145.
- CAKMAK, I.; KURZ, H.; MARSCHNER, H. Short-term effects of boron, germanium and high light intensity on membrane permeability in boron deficient leaves of sunflower. **Physiologia Plantarum**, v. 95, n. 1, p. 11-18, 1995.
- CANCELLIER, E.L.; SILVA, D.R.G.; FAQUIN, V.; GONÇALVES, B. de A.; CANCELLIER, L.L.; SPEHAR, C.R. Ammonia volatilization from enhanced-efficiency urea on no-till maize in brazilian cerrado with improved soil fertility. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, n. 2, p. 133-144, 2016.
- CANTARELLA, H. Calagem e adubação do milho. In: BÜLL, L.T.; CANTARELLA, H. (Ed.). **Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Potafos, 1993. p.147-185.
- CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B; NEVES, J.C.L. (Ed.). **Fertilidade do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2007. p. 375-470.
- CANTARELLA, H.; DUARTE, A.P. Manejo da fertilidade do solo para a cultura do milho. In: GALVÃO, J.C.C.; MIRANDA, G.V. (Ed.). **Tecnologia de produção de milho**. Viçosa: UFV. 2004. p.139-182.
- CANTARELLA, H.; DUARTE, A.P. Manejo da fertilidade do solo para a cultura do milho. In: GALVÃO, J.C.C.; MIRANDA, G.V. (Ed.) **Tecnologia de produção de milho**. Viçosa: UFV. 2004. p.139-182.

- CANTARELLA, H.; MATTOS JÚNIOR, D.; QUAGGIO, J.A.; RIGOLIN, A.T. Fruit yield of Valencia sweet orange fertilized with different N sources and the loss of applied N. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 67, p. 215-223, 2003.
- CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; GALLO, P.B.; BOLONHEZI, D.; ROSSETTO, R.; MARTINS, A.L.M.; PAULINO, V.T.; ALCÂNTARA, P.B. Ammonia losses of NBPT-treated urea under Brazilian soil conditions. In: INTERNATIONAL FERTILIZER INDUSTRY ASSOCIATION INTERNATIONAL WORKSHOP ON ENHANCED-EFFICIENCY FERTILIZERS, Frankfurt, 2005. **Proceedings**. Paris: International Fertilizer Industry Association, 2005.
- CHAPMAN, S.C.; BARRETO, H.G. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. **Agronomy Journal**, v. 89, n. 4, p. 557-562, 1997.
- CHEN, R.; HU, J.; DITTERT, K.; WANG, J.; ZHANG, J.; LIN, X. Soil total nitrogen and natural ^{15}N in response to long-term fertilizer management of a maize-wheat cropping system in Northern China. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 42, n. 3, p. 322–331, 2011.
- COELHO, A.M.; FRANÇA, G.C.; BAHIA, A.F.C.; GUEDES, G.A. Balanço de nitrogênio ^{15}N em Latossolo Vermelho-Escuro, sob vegetação de cerrado, cultivado com milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 15, n. 2, p. 187-193, 1991.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: milho, safra 2016/2017 - décimo segundo levantamento**. Brasília, 2017. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_09_12_10_14_36_boletim_graos_setembro_2017.pdf>. Acesso em: 05 de outubro de 2017.
- CRESTANA, S.; GUIMARÃES, M.F.; JORGE, L.A.C.; RALISCH, R.; TOZZI, C.L.; TORRE, A.; VAZ, C.M.P. Avaliação da distribuição de raízes no solo auxiliada por processamento de imagens digitais. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 18, n. 3, p. 365-371, 1994.

- CROSS, H.Z.; ZUBER, M.S. Prediction of flowering dates in maize based on different methods of estimating thermal units. **Agronomy Journal**, v. 64, n. 3, p.351-355, 1972.
- DA ROS, C.O.; AITA, C.; GIACOMINI, S.J. Volatilização de amônia com aplicação de uréia na superfície do solo, no sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 799-805, 2005.
- DANNEL, F.; PFEFFER, H.; ROHMELD, V. Effect of pH and boron concentration in the nutrient solution on translocation of boron in the xylem of sunflower. In: BELL, R.W.; RERKASEM, B. (Ed.) **Boron in Soils and Plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 1997. p. 183-186.
- DAWAR, K.; ZAMAN, M.; ROWARTH, J.S.; BLENNERHASSETT, J.; TURNBULL, M.H. Urease inhibitor reduces N losses and improves plant-bioavailability of urea applied in fine particle and granular forms under field conditions. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 144, n. 1, p. 41-50, 2011.
- DOBERMANN, A. Nutrient use efficiency: measurement and management. In: KRAUSS, A.; ISHERWOOD, K.; HEFFER, P. (Ed.) **Fertilizer best management practices: general principles, strategy for their adoption and voluntary initiatives vs regulations**. Paris: International Fertilizer Industry Association. 2007. p. 1-28.
- DOMINGHETTI, A.W. **Fertilizantes nitrogenados de eficiência aumentada e convencionais na cultura do cafeeiro**. 2016. 143 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- DOMINGHETTI, A.W.; GUELFÍ, D.R.; GUIMARÃES, R.J.; CAPUTO, A.L.C.; SPEHAR, C.R.; FAQUIN, V. Nitrogen loss by volatilization of nitrogen fertilizers applied to coffee orchard. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, n. 2, p. 173-183, 2016.
- DORDAS, C.; BROWN, P.H. Permeability of boric acid across lipid bilayers and factors affecting it. **Journal Membrane Biology**, v. 175, n. 2, p. 95-105, 2000.

- DOURADO NETO, D.; FAVARIN, J.L.; MANFRON, P.A.; PILAU, F.A.; SOARES, M.A.; BONNECARRERE, R.A.G.; OHSE, S. Efeito de boro e nitrogênio na cultura do milho. **Insula**, v. 33, p. 51-67, 2004.
- DUETE, R.R.C.; MURAOKA, T.; SILVA, E.C.; TREVELIN, P.C.O.; AMBROSANO, E.J. Manejo da adubação nitrogenada e utilização do nitrogênio (^{15}N) pelo milho em Latossolo Vermelho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 1, p. 161-171, 2008.
- EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3 ed. Brasília: Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa de solos, 2013. 353p.
- ENGEL, R.; JONES, C.; WALLANDER, R. Ammonia Volatilization from Urea and Mitigation by NBPT Following Surface Application to Cold Soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 75, p. 2348-2357, 2011.
- ERNANI, P. R **Química do solo e disponibilidade de nutrientes**. Lages: Graphel. 2008. 230p.
- FAGERIA, N.K. Níveis adequados e tóxicos de boro na produção de arroz, feijão, milho, soja e trigo em solo de cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 1, p. 57-62, 2000.
- FAN, M.X.; MACKENZIE, A.F. The toxicity of banded urea to corn growth and yield as influenced by triple superphosphate. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 58, n. 1, p. 249-255, 1994.
- FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. 2.ed. Guaíba: Agropecuária, 2004. 360p.
- FANCELLI, A.L.; TSUMANUMA, G.M. Nitrogênio e enxofre nas culturas de milho e feijão. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S.; VITTI, G.C. **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira**. Piracicaba: IPNI Brasil. 2007. p.445-486.

- FARIA, L.A.; NASCIMENTO, C.A.C.; VITTI, G.C.; LUZ, P.H.C.; GUEDES, E.M.S. Loss of ammonia from nitrogen fertilizers applied to maize and soybean straw. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, n. 4, p. 969-975, 2013.
- FARIA, L.A.; NASCIMENTO, C.A.C.; VENTURA, B.P.; FLORIM, G.P.; LUZ, P.H.C.; VITTI, G.C. Hygroscopicity and ammonia volatilization losses from nitrogen sources in coated urea. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 3, p. 942-948, 2014.
- FARQUHAR, G.D.; SHULZE, E.D.; KUPPERS. Responses to humidity by stomata of *Nicotiana glauca* L. and *Corylus avellana* L. are consistent with the optimization of carbon dioxide uptake with respect to water loss. **Australian Journal of Plant Physiology**, East Melbourne, v.7, p.315-327, 1980.
- FAVARIN, J.L.; TEZOTTO, T.; RAGASSI, C. F. Uso racional de micronutrientes na cultura de milho. **Informações Agronômicas - IPNI**. n. 122, p. 8, 2008.
- FENILLI, T.A.B.; REICHARDT, K.; TRIVELIN, P.C.O.; FAVARIN, J.L. Volatilization of ammonia derived from fertilizer and its reabsorption by coffee plants. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 38, p. 1741-1751, 2007.
- FERNANDES, L.A.; VASCONCELOS, C.A.; FURTINI NETO, A.E.; ROSCOE, R.; GUEDES, G.A. de A. Preparo do solo e adubação nitrogenada na produção de grãos e matéria seca e acúmulo de nutrientes pelo milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 9, p. 1691-1698, 1999.
- FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. **ExpDes**: Experimental Designs package. R package version 1.1.2, 2013.
- FERREIRA, R. B.; FRANZINI, V. P.; GOMES NETO, J. A. Determinação de biureto em uréia agroindustrial por espectrofotometria. **Eclética Química**, v. 32, n. 1, p. 43-48, 2007.
- FONTOURA, S.M.V.; BAYER, C. Adubação nitrogenada para alto rendimento de milho em plantio direto na região Centro-Sul do Paraná. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 6, p. 1721-1732, 2009.

- FRANCIS, D.D.; SCHEPERS, J.S.; SIMS, A.L. Ammonia exchange from corn foliage during reproductive growth. **Agronomy Journal**, v. 89, n. 6, 941-946, 1997.
- FRANCIS, D.D.; SCHEPERS, J.S.; VIGIL, M.F. Post-anthesis nitrogen loss from corn. **Agronomy Journal**, v. 85, p. 659-663, 1993.
- 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 of Sugar Cane Technologists**, v. 16, p. 114-121, 1994.
- FU, L.; YANG, W.; WEI, Y. Effects of copper pollution on the activity of soil invertase and urease in loquat orchards. **Chinese Journal of Geochemistry**, v. 28, n. 1, p. 76-80, 2009.
- FURLANI, A. M. C.; BATAGLIA, O. C.; LIMA, M. Diferenças entre linhagens de milho cultivadas em solução nutritiva quanto à absorção e utilização de nitrogênio. **Bragantia**, v. 44, n. 2, p. 599-618, 1985.
- GAVA, G.J.C.; OLIVEIRA, M.W.; SILVA, M.A.; JERÔNIMO, E.M.; CRUZ, J.C.S.; TRIVELIN, P.C.O. Produção de fitomassa e acúmulo de nitrogênio em milho cultivado com diferentes doses de ^{15}N -ureia. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 851- 862, 2010.
- GAVA, G.J.C.; TRIVELIN, P.C.O.; OLIVEIRA, M.W.; HEINRICHS, R.; SILVA, M.A. Balanço do nitrogênio da uréia (^{15}N) no sistema solo-planta na implantação da semeadura direta na cultura do milho. **Bragantia**, v. 65, n. 3, p. 477-486, 2006.
- GEDROC, J.J.; MCONNAUGHAY, K.D.M.; COLEMAN, J.S. Plasticity in root/shoot partitioning: optimal, ontogenetic, or both? **Functional Ecology**, v. 10, n. 1, p. 44-50, 1996.
- GEE, G.W.; BAUDER, J.M. Particle-size analysis. In: KLUTE, A. (Ed.) **Methods of soil analysis**. 2nd ed. Part 1: Physical and mineralogical methods (Agronomy Series, 9). Madison: ASA; SSSA, 1986. p. 383-411.

- GESSLER, A.; RIENKS, M.; RENNENBERG, H. Stomatal uptake and cuticular adsorption contribute to dry deposition of NH_3 and NO_2 to needles of adult spruce (*Picea abies*) trees. **New Phytologist**, v. 156, n. 2, p. 179-194, 2002.
- GHIBERTO, P.J.; LIBARDI, P.L.; BRITO, A.S.; TRIVELIN, P.C.O. Leaching of nutrients from a sugarcane crop growing on an Ultisol in Brazil. **Agricultural Water Management**, v. 96, n. 10, p. 1443-1448, 2009.
- GROHS, M.; MARCHESAN, E.; SANTOS, D.E.; MASSONI, P.F.S.; SARTORI, G.M.S.; FERREIRA, R.B. Resposta do arroz irrigado ao uso de inibidor de urease em plantio direto e convencional. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 2, p. 336-345, 2011.
- GUELFY, D. Fertilizantes nitrogenados estabilizados, de liberação lenta ou controlada. **Informações Agronômicas - IPNI**. n. 157, p. 1-14, 2017.
- HATLITLIGIL, M.B.; OLSON, R.A.; COMPTON, W.A. Yield, water use, and nutrient uptake of corn hybrids under varied irrigation and nitrogen regimes. **Fertilizers Research**, v.5, n.3, p.321-333, 1984.
- HERINGER, D. Icamp Marcas e Patentes Ltda. Produto fertilizante a base de ureia e processo para fabricação do produto. **PI 0700921-6 A**. 2008. 10p.
- HILL, J.O.; SIMPSON, R.J.; MOORE, A.D.; CHAPMAN, D. Morphology and response of roots of pasture species to phosphorus and nitrogen nutrition. **Plant and Soil**, v. 286, p. 7-19, 2006.
- HODGE, A. The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients. **New Phytologist**, v. 162, n. 1, p. 9-24, 2004.
- HURTADO, S.M.C.; RESENDE, A.V. de; SILVA, C.A.; CORAZZA, E.J.; SHIRATSUCHI, L.S. Variação espacial da resposta do milho à adubação nitrogenada de cobertura em lavoura no Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 3, p. 300-309, 2009.

- JIANG, Y.; DENG, A.; BLOSZIES, S.; HUANG, S.; ZHANG, W. Nonlinear response of soil ammonia emissions to fertilizer nitrogen. **Biology and Fertility of Soils**, v. 53, n. 3, p. 269-274, 2017.
- KISS, S.; SIMIHAIAN, M. **Improving efficiency of urea fertilizers by inhibition of soil urease activity**. Norwell: Kluwer Academic. 2002. 341p.
- KISSEL, D.E.; CABRERA, M.L.; FERGUSON, R.B. Reactions of ammonia and urea hydrolysis products with soil. **Soil Science Society America Journal**, v. 52, n. 6, p. 1793-1796, 1988.
- KRAJEWSKA, B. Ureases I. functional, catalytic and kinetic properties: a review. **Journal of Molecular Catalysis**, v. 59, n. 1-3, p. 9-21, 2009.
- LANGE, A.; LARA-CABEZAS, W.A.R.; TRIVELIN, P.C.O. Sulfato de amônio e uréia em cobertura no milho em semeadura direta no Cerrado. **Revista Ceres**, v. 57, n. 6, p. 817-824, 2010.
- LARA-CABEZAS, W.A.R.; COUTO, P.A. Imobilização de nitrogênio da ureia e do sulfato de amônio aplicado em pré-semeadura ou cobertura na cultura de milho, no sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 739-752, 2007.
- LARA-CABEZAS, W.A.R.; KORNDÖRFER, G.H.; MOTTA, S.A. Volatilização de N-NH₃ na cultura de milho: I Efeito da irrigação e substituição parcial da uréia por sulfato de amônio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 21, n. 3, p. 481-487, 1997.
- LARA-CABEZAS, W.A.R.; SOUZA, M.A.S. Volatilização de amônia, lixiviação de nitrogênio e produtividade de milho em resposta à aplicação de misturas de uréia com sulfato de amônio ou com gesso agrícola. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 32, n. 6, p. 2331-2342, 2008.
- LARA-CABEZAS, W.A.R.; TRIVELIN, P.C.O. Eficiência de um coletor semi-aberto estático na quantificação de N-NH₃ volatilizado da uréia aplicada ao solo. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 14, p. 345-352, 1990.

- LARA-CABEZAS, W.A.R.; TRIVELIN, P.C.O.; BOARETTO, A.E. Efeito do tamanho de grânulo e relação N/S da ureia aplicada em superfície na volatilização de amônia sob diferentes umidades iniciais do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 16, p. 409-413, 1992.
- LARA-CABEZAS, W.A.R.; TRIVELIN, P.C.O.; KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, S. Balanço da adubação nitrogenada sólida e fluida de cobertura na cultura do milho em sistema plantio direto no Triângulo Mineiro (MG). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 2, p. 363-376, 2000.
- LAVRES JÚNIOR., J.; MONTEIRO, F.A. Perfilhamento, área foliar e sistema radicular do capim-Mombaça submetido a combinações de doses de nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 5, p. 1068-1075, 2003.
- LIU, F.; JENSEN, C. R.; ANDERSEN, M. N. A review of drought adaptation in crop plants: changes in vegetative and reproductive physiology induced by ABA-based chemical signals. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 56, n. 11, p. 1245-1252, 2005.
- LUCAS, R. E.; KNEZEK, B. D. Climatic and soil conditions promoting micronutrient deficiencies in plants. In: MORTVEDT, J. J.; GIORDANO, P. M.; LINDSAY, W. L. (Ed.). **Micronutrients in agriculture**. Madison: Soil Science Society of America, 1972. p. 265- 288.
- MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1980. 251p.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2 ed. Piracicaba: POTAFOS. 1997. 319 p.
- MANUNZA, B.; DEYANA, S.; PINTORE, M.; GESSA, C. The binding mechanism of urea, hydroxamic acid and N-(n-butyl)-phosphoric triamide to the urease active site. A comparative molecular dynamics study. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 31, n. 5, p. 789-796, 1999.

- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3.ed. London: Elsevier, 2012. 643p.
- MARTHA JÚNIOR, G.B.; TRIVELIN, P.C.O.; CORSI, M., Absorção foliar pelo capim-tanzânia da amônia volatilizada do ^{15}N -ureia aplicado ao solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 1, p. 103-108. 2009.
- MI, G.; CHEN, F.; ZHANG, F. Physiological and genetic mechanisms for nitrogen-use efficiency in maize. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 10, n. 2, p. 57-63, 2007.
- MILLER, A.J.; CRAMER, M.D. Root nitrogen acquisition and assimilation. **Plant and Soil**, v. 274, p. 1-36, 2004.
- MIOLA, E.C.C.; AITA, C.; ROCHETTE, P.; CHANTIGNY, M.H.; ANGERS, D.A.; BERTRAND, N.; GASSER, M.O. Static chamber measurements of ammonia volatilization from manured soils: impact of deployment duration and manure characteristics. **Soil Science Society of America Journal**, v. 79, n. 1, p. 305-313, 2015.
- MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell & Environment**, v. 25, n. 2, p. 239-250, 2002.
- NASCIMENTO, C.A.C. do; VITTI, G.C.; FARIA, L. de A.; LUZ, P.H.C.; MENDES, F.L. Ammonia volatilization from coated urea forms. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p. 1057-1063, 2013.
- NASCIMENTO, C.A.C. **Ureia recoberta com S^0 , Cu e B em soca de cana-de-açúcar colhida sem queima**. 2012. 71 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.
- NING, P.; LI, S.; YU, P.; ZHANG, Y; LI, C.J. Post- silking accumulation and partitioning of dry matter, nitrogen, phosphorus and potassium in maize varieties differing in leaf longevity. **Field Crops Research**, v. 144, p. 19-27, 2013.

- NOVAIS, R.F.; NEVES, J.C.L.; BARROS, N.F. Ensaio em ambiente controlado. In: OLIVEIRA, A.J.; GARRIDO, W.E.; ARAÚJO, J.D.; LOURENÇO, S. (Ed.). **Métodos de Pesquisa em Fertilidade do Solo**. Brasília: EMBRAPA-SEA. 1991. p. 189-255.
- O'NEILL, M.A.; WARRENFELTZ, D.; KATES, K.; PELLERIN, P.; DOCO, T.; DARVILL, A.; ALBERSHEIM, P. Rhamnogalacturonan II, a pectic polysaccharide in the walls of growing plant cells, forms a dimer that is covalently cross-linked by a borate ester. **Journal Biology Chemistry**, v. 271, n. 37, p. 22923-22930, 1996.
- OTHMER, K. **Encyclopedia of chemical technology**. 4 th ed. John Wiley and Sons: New York. 1998. p. 22950.
- OTTO, R.; ZAVASCHI, E.; SOUZA NETTO, G.J.M.; MACHADO, B.A.; MIRA, A.B. Ammonia volatilization from nitrogen fertilizers applied to sugarcane straw. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 3, p. 413-418, 2017.
- OUYANG, D.; MACKENZIE, A. F.; FAN, M. Phytotoxicity of banded urea amended with triple superphosphate and potassium chloride. **Agronomy Journal**, v. 90, n. 6, p.734-739, 1998.
- PAN, B., LAM, S.K., MOSIER, A., LUO, Y., CHEN, D., 2016. Ammonia volatilization from synthetic fertilizers and its mitigation strategies: a global synthesis. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 232, p. 283-289, 2016.
- PAVINATO, P.S.; AGUIAR, A.; CASTRO, G.S.A.; CRUSCIOL, C.A.C. Boro em arroz de terras altas cultivado em solução nutritiva. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 3, p. 743-751, 2009.
- PEREIRA, H.S.; LEÃO, A.F.; VERGINASSI, A.; CARNEIRO, M.A.C. Ammonia volatilization of urea in the out-of-season corn. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 6, p. 1685-1694, 2009.

- POMMEL, B.; GALLAIS, A.; COQUE, M.; QUILLERÉ, I.; HIREL, B.; PRIOUL, J.L.; ANDRIEU, B.; FLORIOT, M. Carbon and nitrogen allocation and grain filling in three maize hybrids differing in leaf senescence. **European Journal of Agronomy**, n. 24, p. 203-211, 2006.
- PRUD'HOMME, M.; HEFFER, P. **Fertilizer outlook 2017-2021**. Paris: IFA, 2017. 85th IFA Annual Conference Marrakech (Morocco). International Fertilizer Association. Disponível em: <https://www.fertilizer.org/images/Library_Downloads/2017_IFA_Annual_Conference_Marrakech_PIT_AG_Fertilizer_Outlook.pdf>. Acesso em: 11 de setembro de 2017.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM (2017). **R**: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2017.
- RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C. de; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: IAC, 2001. 285p.
- RAMBO, L.; SILVA, P.R.F.; STRIEDER, M. L.; SILVA, A.A.; SANGOI, L.; VIEIRA, V. M. Índices nutricionais de N e produtividade de milho em diferentes níveis de manejo e de adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 4, p. 390-397, 2011.
- RAMBO, L.; SILVA, P.R.F.; ARGENTA, G.; BAYER, C. Testes de nitrato no solo como indicadores complementares no manejo da adubação nitrogenada em milho. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p.1279-1287, 2004.
- RAVEN J.A. Acquisition of nitrogen by the shoots of land plants: its occurrence and implications for acid-base regulation. **New Phytologist**, v. 109, n. 1, p. 1-20, 1988.
- RECH, I.; POLIDORO, J. C.; PAVINATO, P. S. Additives incorporated into urea to reduce nitrogen losses after application to the soil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 52, n. 3, p. 194-204, 2017.

- 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**, v. 8, n. 5, p. 523-528, 1997.
- ROBINSON, D. Root proliferation, nitrate inflow and their carbon costs during nitrogen capture by competing plants in patchy soil. **Plant and Soil**, v. 232, p. 41-50, 2001.
- ROCHETTE, P.; ANGERS, D.A.; CHANTIGNY, M.H.; GASSER, M.-O.; MACDONALD, J.D.; PELSTER, D.E.; BERTRAND, N. NH_3 volatilization, soil NH_4^+ concentration and soil pH following subsurface banding of urea at increasing rates. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 93, n. 2, p. 261-268, 2013a.
- ROCHETTE, P.; ANGERS, D.A.; CHANTIGNY, M.H.; GASSER, M.O.; MACDONALD, J.D.; PELDSTER, D.E.; BERTRAND, N. Ammonia volatilization and nitrogen retention: how deep to incorporate urea? **Journal of Environmental Quality**, v. 42, n. 6, p. 1635-1642, 2013b.
- RODRIGUES, M.B.; KIEHL, J.C. Volatilização de amônia após emprego da uréia em diferentes doses e modo de aplicação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 10, p. 37-43, 1986.
- ROSSIELLO, R. O. P.; ARAÚJO, A. P.; MANZATTO, C. V.; FERNANDES, M. S. Comparação dos métodos fotoelétricos e da interseção na determinação de área, comprimento e raio médio radicular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 633-638, 1995.
- SANGOI, L.; ERNANI, P. R.; SILVA, P. R. F. Maize response to nitrogen fertilization timing in two tillage systems in a soil with high organic matter. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 3, p. 507-517, 2007.
- SANGOI, L.; ERNANI, P.R.; LECH, V.A.; RAMPAZZO, C. Volatilização de N-NH_3 em decorrência da forma de aplicação de ureia, manejo de resíduos e tipo de solo, em laboratório. **Ciência Rural**, v. 33, n. 4, p. 687-692, 2003.

SANGOI, L.; SCHMITT, A.; DA SILVA, P. R. F.; VARGAS, V. P.; ZOLDAN, S. R.; VIERA, J.; SOUZA, C. A.; JUNIOR, G. J, P.; BIANCHET, P. Perfilamento como característica mitigadora dos prejuízos ocasionados ao milho pela desfolha do colmo principal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 11, p. 1605-1612, 2012.

SCHONINGER, E.L. **Absorção foliar de amônio e produtividade do milho em função da época de aplicação de ureia em cobertura**. 2014. 94 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

SHAW, W.H.R. The inhibition of urease by various metal Ions. **Journal of America Chemical Society**, v. 76, p. 2160-2163, 1954.

SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 4, n. 3, p. 289-302, 1981.

SILVA, A.L. **Eficiência agronômica da ureia estabilizada com inibidores de urease e nitrificação na cultura do milho**. 2016. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

SILVA, D.R.G.; PEREIRA, A.F.; DOURADO, R. L.; SILVA, F.P.; ÁVILA, F.W.; FAQUIN, V. Productivity and efficiency of nitrogen fertilization in maize under different levels of urea and NBPT-treated urea. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n. 3, p.516-523, 2011.

SILVA, A.G.B.; SEQUEIRA, C.H.; SERMARINI, R.A.; OTTO, R. Urease inhibitor NBPT on ammonia volatilization and crop productivity: A meta-analysis. **Agronomy Journal**, v. 109, p. 1-13, 2017.

SOARES, M.A. **Influência de nitrogênio, zinco e boro e de suas respectivas interações no desempenho da cultura do milho (*Zea mays* L.)**. 2003. 60 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

SOARES, M.O.; MARRIEL, I.E.; MAGALHÃES, P.C.; GUIMARÃES, L.J.M.; CANTÃO, F.R.O.; ROCHA, M.C.; CARVALHO JÚNIOR, G.A.; MIRANDA, G.V. Discriminação de linhagens de milho quanto à utilização de nitrogênio, por meio da avaliação de características do sistema radicular. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 8, n. 1, p. 95-105, 2009.

SOIL SURVEY STAFF. **Keys to soil taxonomy**. 12th ed. United States Department of Agriculture and Natural Resources Conservation Service, Washington, DC. Disponível em: https://www.nrcs.usda.gov/wps/PA_NRCSCconsumption/download?cid...ext=pdf Acesso em: 07 de agosto de 2017.

SOMMER, S.G.; JENSEN, E.S.; SCHJØRRING, J.K. Leaf absorption of atmospheric ammonia emitted from pig slurry applied beneath the canopy of winter wheat. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 43, p. 21-24, 1993.

SOMMER, S.G.; SCHJØRRING, J.K.; DENMEAD, O.T. Ammonia emission from mineral fertilizers and fertilized crops. **Advances in Agronomy**, v. 82, p. 557-622, 2004.

STAFANATO, J.B.; GOULART, R.S.; ZONTA, E.; LIMA, E.; MAZUR, N.; PEREIRA, C.G.; SOUZA, H.N. de. Volatilização de amônia oriunda de ureia pastilhada com micronutrientes em ambiente controlado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, n. 3, p. 726-732, 2013.

STOCKING, C.R.; ONGUN, A. The intracellular distribution of some metallic elements in leaves. **American Journal of Botany**, v. 49, n. 3, p.284-289, 1962.

SUTER, H.C.; PENGTHAMKEERATI, P.; WALKER, C.; CHEN, D. Influence of temperature and soil type on inhibition of urea hydrolysis by N-(n-butyl) thiophosphoric triamide in wheat and pasture soils in south-eastern Australia. **Soil Research**, v. 49, n. 4, p. 315-319, 2011.

SWIADER, J.M.; CHYAN, Y.; FREIJI, F.G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **Journal of Plant Nutrition**, v. 17, n. 10, p. 1687-1699, 1994.

- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 3 ed. New York: Sinauer, 2010. 782 p.
- TASCA, F.A.; ERNANI, P.R.; ROGERI, D.A.; GATIBONI, L.C.; CASSOL, P.C. Volatilização de amônia do solo após a aplicação de ureia convencional ou com inibidor de urease. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 493-502, 2011.
- TERMAN, G.L. Volatilization losses of nitrogen as ammonia from surface-applied fertilizers, organic amendments, and crop residues. **Advances in Agronomy**, v. 31, p. 189-223, 1979.
- TIAN, Q.Y.; CHEN, F.J.; ZHANG, F.S.; MI, G.H. Possible involvement of cytokinin in nitrate-mediated root growth in maize. **Plant and Soil**, v. 277, p. 185-196, 2005.
- TIMILSENA, Y.P.; ADHIKARI, R.; CASEY, P.; MUSTER, T.; GILL, H.; ADHIKARI, B. Enhanced efficiency fertilisers: a review of formulation and nutrient release patterns. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 6, p. 1131-1142, 2014.
- TISDALE, S.L.; NELSON, W.L.; BEATON, J.D. **Soil Fertility and Fertilizers**. 4th Edition. New York: Macmillan Publishing Company. 1985. 754p.
- TRENKEL, M.E. **Slow and controlled-release and stabilized fertilizers**: An option for enhancing nutrient use efficiency in agriculture. Paris, International Fertilizer Industry Association, 2010. 167p.
- 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**, v. 51, n. 2, 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 ureia no sistema solo-planta em dois ciclos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 2, p. 193-201, 2002.

- TYERMAN, S. D.; NIEMIETZ, C. M.; BRAMLEY, H. Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant Cell Environment*, v. 25, n. 2, p.173-194, 2002.
- VAMERALI, T.; SACCOMANI, M.; BONA, S.; MOSCA, G.; GUARISE, M.; GANIS, A. A comparison of root characteristics in relation to nutrient and water stress in two maize hybrids. **Plant and Soil**, v. 255, n. 1, p. 157-167, 2003.
- VIEIRA-MEGDA, M.X. **Transformações do N derivado do fertilizante no solo e a eficiência de utilização pela cultura da cana-de-açúcar cultivada em solo coberto por palha**. 2013. 156p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.
- VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; FRANCO, H.C.J.; BOLOGNA, I.R.; FARONI, C.E. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada à localização de adubos nitrogenados aplicados sobre os resíduos culturais em canavial sem queima. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 31, n. 3, p. 491-498, 2007.
- VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; FRANCO, H.C.J.; BOLOGNA, I.R.; FARONI, C.E. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada à localização de adubos nitrogenados aplicados sobre resíduos culturais em canavial sem queima. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 491-498, 2007.
- VOLK, G.M. Efficiency of urea as affected by method of application, soil moisture and lime. **Agronomy Journal**, v. 58, p. 249-252, 1966.
- WANG, Y; MI, G.H.; CHEN, F., ZHANG, F. Genotypic differences in nitrogen uptake by maize inbred lines its relation to root morphology. **Acta Ecologica Sinica**, v. 23, n. 2, p. 297-302, 2003.
- WATSON, C.J.; AKHONZADA, N.A.; HAMILTON, J.T. G.; MATTHEWS, D. I. Rate and mode of application of the urease inhibitor N-(*n-butyl*) thiophosphoric triamide on ammonia volatilization from surface-applied urea. **Soil Use and Management**, v. 24, n. 3, p. 246-253, 2008.

- WATSON, C.J.; MILLER, H.; POLAND, P.; KILPATRICK, D.J.; ALLEN, M.B.D.; GARRET, M.K.; CHRISTIANSON, C.B. Soil properties and the ability of the urease inhibitor N-(*n-butyl*) thiophosphoric triamide (nBTPT) to reduce ammonia volatilization from surface-applied urea. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 26, n. 9, p. 1165-1171, 1994.
- WILCOX, C. S.; FERGUSON, J. W.; FERNANDEZ, G. C. J.; NOWAK, R. S. Fine root growth dynamics of four Mojave Desert shrubs as related to soil moisture and microsite. **Journal of Arid Environments**, v. 56, n. 1, p. 129-148, 2004.
- YAMADA, T.; LOPES, A.S. Balanço de nutrientes na agricultura brasileira. **Informações Agronômicas**, n. 84, p. 143, 1998.
- ZOTARELLI, L.; CARDOSO, E.G.; PICCININ, J.L.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M.; TORRES, E.; ALVES, B.J.R. Calibração do medidor de clorofila Minolta SPAD-502 para avaliação do conteúdo de nitrogênio no milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1117-1122, 2003.

ANEXOS

ANEXO A. Nitrogênio total (N-total) nitrogênio proveniente do fertilizante (NPF) e recuperação do N-fertilizante no solo com o cultivo de milho em condições controladas e a aplicação em superfície de ureia tratada com ácido bórico, sulfato de cobre e N-(*n-butil*) triamida tiofosfórica, aos 52 (V8) e 61 (VT) dias após a semeadura.

Fertilizante ¹	N-total (g kg ⁻¹ solo)	NPF		Recuperação (%)
		%	mg kg ⁻¹ solo	
V8				
U	0,79 ± 0,01	0,9 ± 0,1	6,9 ± 0,45	2,7 ± 0,2
U + 0,48% B	0,77 ± 0,02	1,0 ± 0,1	7,7 ± 1,24	3,0 ± 0,5
U + 0,60% B	0,76 ± 0,01	1,2 ± 0,2	9,3 ± 1,46	3,8 ± 0,6
U + 0,72% B	0,81 ± 0,03	1,1 ± 0,1	8,8 ± 1,07	2,9 ± 0,1
U + 0,96% B	0,71 ± 0,00	1,0 ± 0,2	7,4 ± 1,35	3,3 ± 0,4
U + CuB	0,74 ± 0,02	1,0 ± 0,1	7,6 ± 0,81	3,1 ± 0,3
U + NBPT	0,79 ± 0,04	1,2 ± 0,0	9,2 ± 0,69	3,7 ± 0,4
Controle	0,73 ± 0,02	ND	ND	ND
p>F	0,100	0,590	0,548	0,548
CV	5,31	20,33	21,84	21,84
VT				
U	0,74 ± 0,03	0,9 ± 0,5	6,6 ± 0,27	2,7 ± 0,1
U + 0,48% B	0,75 ± 0,03	1,0 ± 0,4	7,4 ± 0,27	3,0 ± 0,1
U + 0,60% B	0,73 ± 0,01	1,3 ± 0,3	9,4 ± 1,05	3,8 ± 0,4
U + 0,72% B	0,76 ± 0,03	0,9 ± 0,3	7,2 ± 0,37	2,9 ± 0,1
U + 0,96% B	0,72 ± 0,01	1,1 ± 0,3	8,1 ± 1,01	3,3 ± 0,4
U + CuB	0,73 ± 0,03	1,0 ± 0,4	7,5 ± 0,24	3,0 ± 0,1
U + NBPT	0,74 ± 0,03	1,2 ± 0,3	8,8 ± 0,69	3,6 ± 0,3
Controle	0,72 ± 0,02	ND	ND	ND
p>F	0,814	0,168	0,138	0,138
CV	5,00	17,15	15,08	15,08

¹U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) pelo tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente; NBPT: tratamento com 0,053% de N-(*n-butil*) triamida tiofosfórica. Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste LSD ($P \leq 0,10$). CV: coeficiente de variação (%).

ANEXO B. Eficiência de uso (EUN), eficiência de absorção (EAN) e eficiência de transporte (ETN) de nitrogênio pelo milho, a partir da aplicação em superfície de ureia tratada com ácido bórico, sulfato de cobre e N-(*n-butil*) triamida tiofosfórica, aos 52 (V8) e 61 (VT) dias após a semeadura, sob condições controladas.

U: ureia não tratada; B: adição de boro (%) pelo tratamento com ácido bórico; CuB: tratamento com ácido bórico e sulfato de cobre com 0,40% e 0,15% de B e Cu, respectivamente; NBPT: tratamento com 0,053% de N-(*n-butil*) triamida tiofosfórica. Letras distintas difere pelo teste LSD ($P \leq 0,05$).

APÊNDICES

APÊNDICE A. Aplicação dos fertilizantes (a); preparo da solução ácida com indicador de pH (b); unidade experimental: câmara estática fechada com armadilha ácida para captura de N-NH_3 (c); panorama geral do ambiente de experimentação com a disposição de blocos (d); troca de soluções dos coletores (e), término de coleta com unidades amostrais prontas para condicionamento (f).

APÊNDICE B. Granulação da ^{15}N -ureia em prato rotativo (a); correção do solo e adubação de pré-semeadura (b); período de incubação do solo (c); período de emergência, aos 4 DAS (d); aplicação dos tratamentos, aos 18 DAS (e); unidade experimental e coletor aberto de N-NH_3 (f); vista geral do experimento após tratamento; (g); dissolução dos grânulos, 1 DAAF (h).

APÊNDICE C. Vista geral do experimento aos 27 DAS (a); sintomas de deficiência de cálcio (b); irrigação dos vasos fora da faixa de aplicação dos fertilizantes (c); última aplicação de Ca, aos 32 DAS (d); danos foliares por inseto, aos 33 DAS (e); compartimentos vegetais de colmo, folha e bainha em V8; (f); folhas não expandidas e órgãos reprodutivos em V8 (g); raízes após lavagem (h).

APÊNDICE D. Comparação da parte aérea de plantas de milho entre tratamentos, de um mesmo bloco aos 51 DAS, dia anterior à colheita da 1ª avaliação.

APÊNDICE E. Parte aérea de plantas de milho de um mesmo bloco aos 60 DAS, dia anterior à colheita da 2ª avaliação.